



**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa blimbi* L) SEBAGAI
ANTIBAKTERI UNTUK MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas
gingivalis* SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

OLEH :

**ANDI MAGHFIRA ANDRIANY IDHIL
155070407111013**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2018**

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa blimbi L*) SEBAGAI ANTIBAKTERI UNTUK
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas
gingivalis* SECARA *IN VITRO***

Oleh:
ANDI MAGHFIRA ANDRIANY IDHIL
155070407111013

Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal
14 Desember 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat
memperoleh gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi



Menyetujui,
Pembimbing I

drg. Rudhanton, Sp. Perio
NIP. 2008086311081001

Malang, 17 Desember 2018
Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG
NIP. 198004092008122004

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa blimbi L*) SEBAGAI ANTIBAKTERI UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas* *gingivalis* SECARA *IN VITRO*

Oleh:

ANDI MAGHFIRA ANDRIANY IDHIL

155070407111013



Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I

drg. Rudhanton, Sp. Perio
NIP. 2008086311081001

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 01 Desember 2018
Yang menyatakan,

Andi Maghfira Andriany I
155070407111013

ABSTRAK

Idhil Andriany Maghfria A. 155070407111013. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang. 14 November 2018. **“Efektivitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi L*) Sebagai Antibakteri Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Secara *In Vitro*”**. Pembimbing: drg.Rudhanton, Sp. Perio

Penyakit periodontal adalah salah satu penyakit dalam rongga mulut yang menimbulkan masalah kesehatan gigi dan mulut. Periodontitis kronis sering dikaitkan dengan bakteri patogen, salah satu bakteri patogen dominan penyebab periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri ini adalah bakteri fakultatif anaerob yang dapat merusak jaringan periodontal dan meresorpsi tulang alveolar. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) dapat dipertimbangkan sebagai obat alternatif dari bahan alami karena mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) efektif sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan *true experimental laboratory* dengan menggunakan desain penelitian *post test only control group design* yang berguna untuk melihat daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh dengan menggunakan etanol 96% pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan metode sumuran. Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang digunakan adalah 12.5%, 25%, 37%, 50%, 62,5%, 75%. Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Konsentrasi hambat minimum didapatkan dengan mengamati zona bening yang terbentuk pada media BHI-A. Analisis data menggunakan *One Way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Uji korelasi pearson menunjukkan adanya hubungan kuat dengan arah positif yang dapat diartikan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak maka pertumbuhan bakteri semakin bertambah. Uji regresi menunjukkan efektivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh sebesar 88.8% ($R \text{ square} = 0.888$). Berdasarkan

penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh efektif sebagai daya hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in-vitro*

Kata Kunci: *Porphyromonas gingivalis*, daun belimbing wuluh, *Averrhoa blimbi L*, daya hambat



ABSTRACT

Idhil Andriany Maghfria A. 155070407111013. Dentist Education Study Program. Faculty of Dentistry Universitas Brawijaya Malang. November 14, 2018. "**The Effectiveness of Wuluh Starfruit Leaf Extract (*Averrhoa Blimbi L*) as Antibacterial to Inhibit *Porphyromonas Gingivalis* Growth**". Advisor: drg. Rudhanton, Sp. Perio

Periodontal disease is one of the diseases in the oral cavity that causes tooth and oral health problems. Chronic periodontitis is often related with pathogenic bacteria, one of the dominant pathogenic bacteria which causing chronic periodontitis is *Porphyromonas gingivalis*. This bacterium is an anaerobic facultative bacterium that can damage periodontal tissue and absorb alveolar bone. Wuluh starfruit leaves (*Averrhoa blimbi L*) can be considered as an alternative medicine from natural ingredients because they contain flavonoids, saponins, triterpenoids and tannins. The purpose of this research is proving that the extract of starfruit leaves (*Averrhoa blimbi L*) is an antibacterial effective *Porphyromonas gingivalis*. This study used the true experimental laboratory using a post-test only control group design that was useful to see the inhibition of extract of starfruit leaf extract using 96% ethanol in *Porphyromonas gingivalis* using the well method. The concentration of extract of starfruit leaves used was 12.5%, 25%, 37%, 50%, 62.5%, 75%. Each treatment is repeated four times. The minimum inhibitory concentration is obtained by observing the clear zone formed on the BHI-A media. Data analysis using One Way ANOVA with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$) which showed a significant difference in changes in the concentration of the growth of *Porphyromonas gingivalis*. Pearson correlation test shows that there is a strong relationship with positive direction which can be interpreted as increasing the concentration of extracts, increasing bacterial growth. Regression test showed the effectiveness of antibacterial extract of starfruit leaves as much as 88.8% (R square = 0.888). Based on this study, it can be concluded that the extract of

starfruit leaves is effective as an inhibitory in the growth of *Porphyromonas gingivalis* in vitro

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, Wuluh starfruit leaf, Blimbi L Averrhoa, inhibitory



KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah- Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Efektivitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi L*) Sebagai Antibakteri Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis Secara In Vitro*”

Dengan selesainya Skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. drg. R. Setyohadi, MS. Sebagai dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya yang telah memberi kesempatan penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp. KG selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Unviersitas Brawijaya
3. drg. Rudhanton, Sp. Perio sebagai pembimbing yang dengan sabar membimbing, memberi masukan, dan saran serta senantiasa memberi semangat sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. drg. Diah, Sp. Perio selaku dosen penguji 1 yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, serta bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat selesai
5. drg. Viranda Sutanti, M.Si selaku dosen penguji 2 yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, serta bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat selesai



6. Segenap anggota Tim Pengelola skripsi FKG UB.
7. Kedua orang tua saya yang selalu memberikan dukungan dan semangat
8. Saudara saya, kakak Eky dan Indri yang selalu memberikan doa, dukungan, dan semangat
9. Sahabat saya, almh. Faizah Destiana, Mutiara, Andrawina, Aninditha yang selalu jadi tempat curhat, dan selalu memberi dukungan
10. Teman- teman seperjuangan skripsi se- departemen perio Taufik dan Nida
11. Teman- teman seperjuangan skripsi se- departemen perio angkatan 2015
12. Keluarga DDB (Dara Daeng Brawijaya)
13. Teman- teman FKG UB 2015
14. Teman- teman kos simpang dewandaru 17 A
15. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu



Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 1 Desember 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	I
HALAMAN PENGESAHAN	II
HALAMAN PERSETUJUAN	III
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	IV
KATA PENGANTAR.....	V
ABSTRAK.....	VIII
DAFTAR ISI	XII
DAFTAR GAMBAR.....	XVI
DAFTAR TABEL	XVII
DAFTAR SINGKATAN	XVIII
DAFTAR LAMPIRAN	XIX
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Jaringan Periodontal	6
2.2 Penyakit Periodontal.....	6
2.2.1 Etiologi Penyakit Periodontitis	7
2.3 Gingivitis	7
2.3.1 Etiologi Gingivitis.....	7
2.3.2 Patogenesis Gingivitis	8
2.4 Periodontitis	9



2.4.1	Definisi	9
2.4.2	Etiologi	10
2.4.3	Patogenesis Periodontitis	11
2.5	Periodontitis Kronis	12
2.6	Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	13
2.6.1	Klasifikasi	13
2.6.2	Morfologi	13
2.6.3	Korelasi <i>Prophyomonas gingivalis</i> sebagai periodontopatogen utama pada periodontitis Kronis	15
2.6.4	Metabolisme	15
2.6.5	Mekanisme perlekatan <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada hospes	16
2.6.6	Identifikasi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	18
	2.6.6.1 Uji Pewarnaan Gram	18
	2.6.6.2 Uji Oksidase	19
	2.6.6.3 Uji Agar Mac Conkey	20
2.7	Chlorhexidine Gluconate	20
2.8	Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	25
2.9	Uji Antibakteri	25
	2.9.1 Metode difusi	25
	2.9.2 Metode Dilusi	27
2.10	Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa blimbi L</i>)	27
	2.10.1 Deskripsi Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa blimbi L</i>)	27
	2.10.2 Kandungan Daun Belimbing Wuluh	29
	2.10.3 Peran Daun Belimbing Wuluh Sebagai Antibakteri	35
2.11	Ekstraksi	36
 BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		
3.1	Kerangka Konsep	40
3.2	Hipotesis Penelitian	42
 BAB IV METODE PENELITIAN		
4.1	Desain Penelitian	43
4.2	Populasi dan Sampel	43

4.2.1	Populasi Penelitian.....	43
4.2.2	Sampel Penelitian	43
4.3	Variabel Penelitian	45
4.3.1	Variabel Bebas	45
4.3.2	Variabel Tergantung.....	45
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian	45
4.4.1	Tempat Penelitian	45
4.4.2	Waktu Penelitian.....	45
4.5	Bahan dan Alat Penelitian.....	46
4.5.1	Bahan Penelitian	46
4.5.2	Alat Penelitian.....	46
4.6	Definisi Operasional	47
4.7	Prosedur Penelitian/ Pengumpulan data.....	48
4.7.1	Persiapan.....	48
4.7.2	Uji Identifikasi Bakteri	48
4.7.2.1	Pewarnaan Gram.....	49
4.7.2.2	Tes Oksidase.....	49
4.7.2.3	Uji <i>Mac Conkey</i>	50
4.7.3	Prosedur Pembuatan Ekstrak daun belimbing wuluh dan Pengenceran Bahan Coba.....	50
4.7.4	Persiapan Kultur Bakteri Uji dan Suspensi Uji <i>Porphyromonas gingivalis</i>	52
4.7.5	Penentuan KHM Bahan Coba	53
4.8	Analisis Data	55
4.9	Alur Penelitian	56

BAB V HASIL PENELITIAN DAN HASIL DATA

5.1	Hasil Identifikasi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	57
5.1.1	Hasil Pewarnaan Gram.....	57
5.1.2	Tes Oksidase	58
5.1.3	Tes <i>Mac Conkey</i>	58
5.2	Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh	59
5.3	Uji Pendahuluan.....	61
5.4	Hasil Uji Pengulangan Difusi Sumuran.....	62
5.5	Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh	64
5.6	Analisis Data.....	66



5.6.1	Hasil Pengujian Normalitas dan Uji Homogenitas Varians Terhadap Ekstrak Daun Belimbing Wuluh.....	67
5.6.2	Analisis Hasil Perhitungan Terhadap Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	69

BAB VI HASIL PEMBAHASAN..... 74

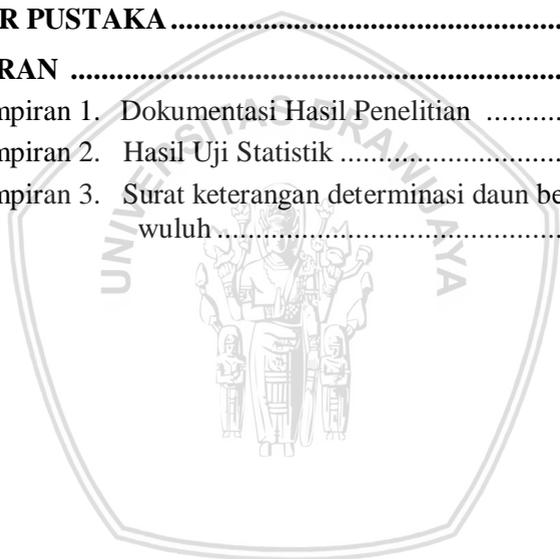
BAB VII PENUTUP

7.1	Kesimpulan	81
7.2	Saran.....	82

DAFTAR PUSTAKA..... 83

LAMPIRAN 90

Lampiran 1.	Dokumentasi Hasil Penelitian	90
Lampiran 2.	Hasil Uji Statistik	93
Lampiran 3.	Surat keterangan determinasi daun belimbing wuluh	98

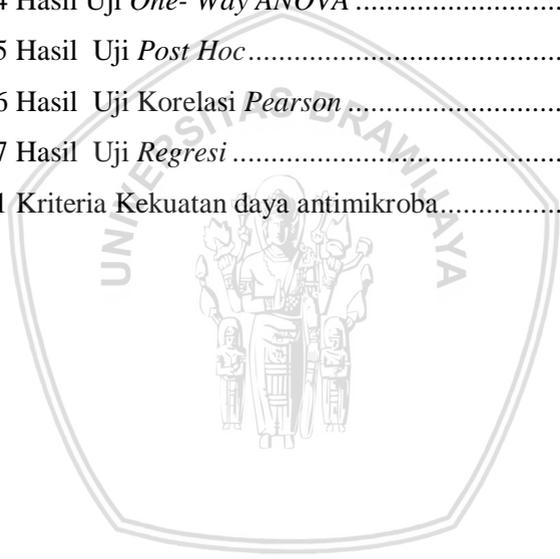


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
Gambar 2.2 <i>Chlorhexidine</i> obat kumur	22
Gambar 2.3 <i>Chlorhexidine Spray</i>	23
Gambar 2.4 <i>Chlorhexidine</i> Subgingival	24
Gambar 2.5 Daun Belimbing Wuluh	29
Gambar 2.6 Jenis – jenis Flavonoid	32
Gambar 5.1 Pengamatan mikroskop pewarnaan Gram Bakteri PG	57
Gambar 5.2 Hasil Tes Oksidase.....	58
Gambar 5.3 Uji Agar Mac Conkey I.....	59
Gambar 5.4 Uji Agar Mac Conkey II.....	59
Gambar 5.5 Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh.....	60
Gambar 5.6 Uji Kontaminasi	60
Gambar 5.7 Uji Pendahuluan I	62
Gambar 5.8 Uji Pendahuluan II	62
Gambar 5.9 Hasil Uji Pengulangan	63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan kimia dalam daun belimbing wuluh.....	30
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran	65
Tabel 5.2 Hasil Pengujian Normalitas <i>Shapiro- Wilk</i>	67
Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas Lavene	68
Tabel 5.4 Hasil Uji <i>One- Way ANOVA</i>	69
Tabel 5.5 Hasil Uji <i>Post Hoc</i>	70
Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi <i>Pearson</i>	71
Tabel 5.7 Hasil Uji <i>Regresi</i>	72
Tabel 6.1 Kriteria Kekuatan daya antimikroba.....	76



DAFTAR SINGKATAN

BHI-A	<i>Brain Heart Infusion Agar</i>
BHI-B	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Hasil Penelitian	90
Lampiran 2. Hasil Uji Statistik.....	93
Lampiran 3. Determinasi Daun Belimbing Wuluh.....	98



ABSTRAK

Idhil Andriany Maghfria A. 155070407111013. Program Studi Pendidikan Dokter Gigi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang. 14 November 2018. **“Efektivitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi L*) Sebagai Antibakteri Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis Secara In Vitro*”**. Pembimbing: drg.Rudhanton, Sp. Perio

Penyakit periodontal adalah salah satu penyakit dalam rongga mulut yang menimbulkan masalah kesehatan gigi dan mulut. Periodontitis kronis sering dikaitkan dengan bakteri patogen, salah satu bakteri patogen dominan penyebab periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri ini adalah bakteri fakultatif anaerob yang dapat merusak jaringan periodontal dan meresorpsi tulang alveolar. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) dapat dipertimbangkan sebagai obat alternatif dari bahan alami karena mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) efektif sebagai antibakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan *true experimental laboratory* dengan menggunakan desain penelitian *post test only control group design* yang berguna untuk melihat daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh dengan menggunakan etanol 96% pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan metode sumuran. Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang digunakan adalah 12.5%, 25%, 37%, 50%, 62,5%, 75%. Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Konsentrasi hambat minimum didapatkan dengan mengamati zona bening yang terbentuk pada media BHI-A. Analisis data menggunakan *One Way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Uji korelasi pearson menunjukkan adanya hubungan kuat dengan arah positif yang dapat diartikan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak maka pertumbuhan bakteri semakin bertambah.

Uji regresi menunjukkan efektivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh sebesar 88.8% ($R^2 = 0.888$). Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh efektif sebagai daya hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in-vitro*

Kata Kunci: *Porphyromonas gingivalis*, daun belimbing wuluh, *Averrhoa blimbi* L, daya hambat



ABSTRACT

Idhil Andriany Maghfria A. 155070407111013. Dentist Education Study Program. Faculty of Dentistry Universitas Brawijaya Malang. November 14, 2018. "**The Effectiveness of Wuluh Starfruit Leaf Extract (*Averrhoa Blimbi L*) as Antibacterial to Inhibit *Porphyromonas Gingivalis* Growth**". Advisor: drg. Rudhanton, Sp. Perio

Periodontal disease is one of the diseases in the oral cavity that causes tooth and oral health problems. Chronic periodontitis is often related with pathogenic bacteria, one of the dominant pathogenic bacteria which causing chronic periodontitis is *Porphyromonas gingivalis*. This bacterium is an anaerobic facultative bacterium that can damage periodontal tissue and absorb alveolar bone. Wuluh starfruit leaves (*Averrhoa blimbi L*) can be considered as an alternative medicine from natural ingredients because they contain flavonoids, saponins, triterpenoids and tannins. The purpose of this research is proving that the extract of starfruit leaves (*Averrhoa blimbi L*) is an antibacterial effective *Porphyromonas gingivalis*. This study used the true experimental laboratory using a post-test only control group design that was useful to see the inhibition of extract of starfruit leaf extract using 96% ethanol in *Porphyromonas gingivalis* using the well method. The concentration of extract of starfruit leaves used was 12.5%, 25%, 37%, 50%, 62.5%, 75%. Each treatment is repeated four times. The minimum inhibitory concentration is obtained by observing the clear zone formed on the BHI-A media. Data analysis using One Way ANOVA with a confidence level of 95% ($\alpha = 0.05$) which showed a significant difference in changes in the concentration of the growth of *Porphyromonas gingivalis*. Pearson correlation test shows that there is a strong relationship with positive direction which can be interpreted as increasing the concentration of extracts, increasing bacterial growth. Regression test showed the effectiveness of antibacterial extract of starfruit leaves as much as 88.8% (R square = 0.888). Based on this study, it can be concluded that the extract of

starfruit leaves is effective as an inhibitory in the growth of *Porphyromonas gingivalis* in vitro

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, Wuluh starfruit leaf, Blimbi L Averrhoa, inhibitory



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kesehatan gigi dan mulut sering kali menjadi prioritas yang kesekian bagi sebagian orang. Padahal seperti kita ketahui, gigi dan mulut merupakan ‘pintu gerbang’ masuknya kuman dan bakteri sehingga dapat mengganggu kesehatan organ tubuh lainnya (Depkes, 2014).

Di Indonesia laporan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). Depkes RI tahun 2001 menyatakan, di antara penyakit yang dikeluhkan dan yang tidak dikeluhkan, prevalensi penyakit gigi dan mulut adalah tertinggi meliputi 60% penduduk. Gigi dan mulut merupakan investasi bagi kesehatan seumur hidup. Peranannya cukup besar dalam mempersiapkan zat makan sebelum absorpsi nutrisi pada saluran pencernaan, di samping fungsi psikis dan sosial. Karies gigi merupakan penyakit yang paling banyak dijumpai di rongga mulut bersama-sama dengan penyakit periodontal, sehingga merupakan masalah utama kesehatan gigi dan mulut (Tampubolon, 2005).

Penyakit periodontal banyak diderita oleh manusia hampir di seluruh dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi dewasa. Menurut hasil survey kesehatan gigi dan mulut di Jawa Timur tahun 1995, penyakit periodontal terjadi pada 459 orang diantara 1000 penduduk dan lebih banyak di pedesaan daripada perkotaan. Di Asia dan Afrika prevalensi dan intensitas penyakit periodontal terlihat lebih tinggi daripada di Eropa, Amerika, dan Australia. Di Indonesia

penyakit periodontal menduduki urutan ke dua masalah kesehatan gigi dan mulut di masyarakat (Syafira *et al.*, 2013).

Periodontitis merupakan penyakit yang ditandai dengan perubahan patologis pada jaringan periodontal yang disebabkan oleh bakteri periodontopatogen dan didominasi oleh *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Bakteri *P. gingivalis* menyebabkan inflamasi pada jaringan periodontal dan membutuhkan terapi yang adekuat untuk mencegah terjadinya resorpsi tulang dan kerusakan ligament periodontal. Prinsip utama terapi periodontitis dengan cara mengontrol progresifitas penyakit melalui *scaling*, *root planning* dan pemberian bahan antibakteri (Riabqo *et al.*, 2016). Selain *scaling*, *root planning*, *chlorhexidine gluconate* merupakan perawatan *gold standart* dalam perawatan periodontal. Meskipun demikian, penggunaan *chlorhexidine gluconate* dalam jangka panjang tidak dianjurkan karena efek samping yang dapat terjadi (Suwito *et al.*, 2017). Sejak dahulu hingga saat ini penggunaan bahan alami sebagai obat herbal dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern karena efek samping obat herbal adalah lebih relatif kecil jika digunakan secara tepat (Bustanussalam, 2016). Tanaman herbal yang kerap kali digunakan salah satunya adalah daun belimbing wuluh.

Belimbing wuluh atau *Averrhoa bilimbi* Linn merupakan tanaman yang berasal dari daerah Amerika yang beriklim tropis dan dibudidayakan di sejumlah Negara seperti Malaysia, Argentina, Australia, Brazil, India, Philippines, Singapore, Thailand, dan Venezuela. (Pendit *et al.*, 2016).

Daun belimbing wuluh dijadikan obat tradisional karena di dalamnya terdapat zat-zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut zat antiseptik. Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin (Liantari, 2014).

Penelitian terhadap *Porphyromonas gingivalis* sebelumnya juga menunjukkan pertumbuhan yang terhambat oleh beberapa ekstrak diantaranya adalah penelitian ekstrak kulit buah naga merah yang memiliki daya hambat dengan pelarut kloroform pada *P. gingivalis* mulai konsentrasi 6,25% dan daya hambat tertinggi pada konsentrasi 100% secara *in-vitro* (Riabqo *et al.*, 2016). Saat ini belum ada penelitian yang dilakukan untuk mengetahui konsentrasi efektif ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) sebagai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in-vitro*. Berdasarkan hal diatas, maka penelitian pengujian bahan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) sebagai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in-vitro* ini dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas dapat disusun rumusan masalah penelitian sebagai berikut, apakah ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in-vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) sebagai daya hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in-vitro*

b. Tujuan Khusus

1. Mengetahui diameter zona hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*
2. Mengetahui hubungan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai :

1. Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan dan dapat dimanfaatkan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya sebagai pengembangan obat herbal antibakteri yang efektif, alamiah, dan murah dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) khususnya dalam bidang kedokteran gigi

2. Manfaat bagi Masyarakat / Praktisi

Sebagai informasi ilmiah bagi masyarakat mengenai obat herbal khususnya daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L) sebagai upaya preventif dalam pengobatan periodontitis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 JARINGAN PERIODONTAL

Jaringan periodontal merupakan sistem fungsional jaringan yang mengelilingi gigi dan melekat pada tulang rahang, dengan demikian dapat mendukung gigi sehingga tidak terlepas dari soketnya. Jaringan periodontal terdiri atas gingiva, tulang alveolar, ligamentum periodontal, dan sementum. Sementum termasuk dalam jaringan periodontal, karena sementum bersama-sama dengan tulang alveolar merupakan tempat tertanamnya serat-serat utama ligamentum periodontal. Setiap jaringan memiliki peran yang penting dalam memelihara kesehatan dan fungsi dari jaringan periodontal. Keadaan jaringan periodontal ini sangat bervariasi, tergantung dan dipengaruhi oleh morfologi gigi, fungsi maupun usia (Putri *et al.*, 2012).

2.2 PENYAKIT PERIODONTAL

Pengetahuan manusia tentang etiologi dan patogenesis kondisi dan penyakit mulut selalu berubah sesuai dengan meningkatnya ilmu pengetahuan ilmiah. Inflamasi gingiva diinisiasi oleh banyak spesies bakteri dari plak dental sebagai akibat dari kebersihan rongga mulut yang buruk. Adanya plak bakteri patogen secara terus-menerus menyebabkan proses inflamasi meluas sampai ke ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar sehingga menyebabkan hilangnya perlekatan gingiva ke gigi dan resorpsi tulang pendukung (Loomer *et al.*, 2007).

2.2.1 Etiologi Penyakit Periodontitis

Etiologi utama penyakit periodontal adalah plak dental. Plak dental adalah deposit lunak yang membentuk biofilm yang menumpuk ke permukaan gigi atau permukaan keras lainnya di rongga mulut. Plak dental merupakan ekosistem yang unik. Ratusan spesies bakteri hidup di dalam kavitas oral, dan kelompok bakteri ini membentuk kumpulan plak dental (Dumitrescu *et al.*, 2010).

2.3 GINGIVITIS

Gingivitis adalah inflamasi gingiva yang hanya meliputi jaringan gingiva sekitar gigi. Secara mikroskopis, gingivitis ditandai dengan adanya eksudat inflamasi dan edema, kerusakan serat kolagen gingiva terjadi ulserasi, proliferasi epitelium dari permukaan gigi sampai ke attached gingiva. Beberapa studi sebelumnya menyebutkan bahwa gingivitis marginal merupakan penyakit periodontal yang paling sering ditemukan pada anak-anak (McDonald *et al.*, 2004).

2.3.1 Etiologi gingivitis

Pada anak-anak dan orang dewasa penyebab utama gingivitis adalah plak dan mempunyai hubungan dengan kebersihan mulut yang buruk. Sebanyak 61,5% penduduk Indonesia tidak mengetahui kapan menyikat gigi yang benar yaitu pagi setelah makan dan sebelum tidur malam, padahal plak dapat dihilangkan hanya dengan menyikat gigi (Fannya *et al.*, 2013).

2.3.2 Patogenesis Gingivitis (Werdiningsing *et al.*, 2013).

Tahap awal terjadinya gingivitis secara klinis tidak tampak. Tahap ini disebut gingivitis subklinis atau gingivitis dengan lesi inisial. Perubahan awal inflamasi ini terjadi sebagai respons leukosit dan sel endotel setempat terhadap aktivasi mikroba. Responsnya berupa perubahan vaskular yaitu kapiler berdilatasi diikuti peningkatan aliran darah. Keadaan ini terjadi antara 2-7 hari dari adanya akumulasi plak. Secara mikroskopis terlihat sel PMN menepi, menembus dinding pembuluh kapiler, masuk ke jaringan ikat, epitel penghubung, maupun sulkus gingiva.

Keadaan berikutnya disebut gingivitis dengan lesi awal yaitu dalam 6-12 hari akumulasi plak. Batas antara lesi inisial dengan lesi awal gingivitis ini tidak jelas.

Secara klinis mulai tampak eritema karena pembuluh-pembuluh kapiler berproliferasi atau membanyak dan meningkatnya pembentukan ujung-ujung kapiler baru. Pada kondisi ini kemudahan perdarahan meningkat disertai peningkatan aliran dan jumlah cairan celah gingiva serta jumlah leukosit terutama limfosit T yang bertransmigrasi. Pada saat ini jumlah kolagen yang rusak dan hilang mencapai 70%. Sel-sel fibroblast menjadi rusak dan kemampuan memproduksi kolagen sangat menurun. Sel PMN melepas lisosom sebagai akibat memproses bakteri difagositnya.

Lesi establis pada tahap ke tiga terjadinya gingivitis didominasi oleh sel B dan sel plasma. Dalam hal ini sel B didominasi

oleh subklas dari IgG1 dan IgG3. Keadaan kronis ini terjadi dalam 2-3 minggu setelah akumulasi plak, dengan pembuluh darah membesar, pembuluh vena rusak, dan aliran darah tersendat. Sel-sel darah merah dapat keluar ke jaringan ikat, ada yang pecah sehingga hemoglobin maupun pigmennya keluar. Akibatnya warna setempat menjadi merah kebiruan. Lisosom dari PMN meningkat, karena berisi asam hidrolase yang merusak komponen-komponen jaringan serta semua sel darah setempat seperti sel plasma, PMN, limfosit, monosit, sel mast, dan sebagainya. Keadaan ini dapat stabil atau menetap hingga dalam hitungan tahun, ada pula yang berprogresi menjadi aktif

Lesi lanjut (*advanced*) merupakan tahap atau fase kerusakan jaringan periodontal yang lebih dalam. Keadaan lanjut ini tergantung pada kepekaan masing-masing individu.

2.4 PERIODONTITIS

2.4.1 Definisi

Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme atau kelompok spesifik mikroorganisme tertentu, yang mengakibatkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan pembentukan poket, resesi, atau keduanya. Keadaan ini mengakibatkan terjadinya hilang perlekatan pada ginggiva. Periodontitis juga menyebabkan terjadinya kerusakan tulang alveolar lebih dalam, migrasi patologis yang menimbulkan diastema,

pembentukan poket, periodontal dan kegoyangan gigi yang dapat mengakibatkan tanggalnya gigi geligi (Newman *et al.*, 2015).

2.4.2 Etiologi

Penyakit periodontal adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan karena bakteri yang terdapat pada plak gigi. Penyebab periodontitis kronis terdiri dari dua bagian yaitu faktor lokal dan sistemik. Faktor lokal berpengaruh pada keberadaan plak yang berperan sebagai pencetus terjadinya penyakit. Plak gigi merupakan lapisan masa lunak yang menempel pada permukaan gigi. Akumulasi plak dipengaruhi oleh faktor *oral hygiene* dan anatomi gigi (Rose *et al.*, 2004).

Etiologi utama penyakit periodontal adalah mikroorganismenya. Bakteri aerob dan anaerob merupakan mikroorganismenya yang paling banyak ditemukan pada poket periodontal. *Streptococcus sp* dan *actinomyces sp* merupakan yang paling banyak, dan sebagian adalah *porphyromonas gingivalis*, *prevotella intermedia*, *peptostreptococcus sp*, *fusobacterium sp*, *treponema denticola*, *eikenella corrodens*, dan *actinobacillus actinomycetemcomitans*. Adapun faktor predisposisi terjadinya penyakit periodontal adalah kalkulus, kesalahan restorasi, komplikasi yang berhubungan dengan penggunaan ortodontik, merokok, dan beberapa penyakit sistemik tertentu (Lubis, 2016).

2.4.3 Patogenesis Periodontitis

Periodontitis diawali dengan pembentukan plak dimana bakteri pathogen hidup bersama dan berinteraksi dalam suatu lingkungan yang tertutup matriks. Plak biofilm menginduksi adanya paparan dari hospes terhadap komponen permukaan sel bakteri seperti lipopolisakarida yang dilepaskan ke dalam sulkus gingiva dalam bentuk vesikel- vesikel. Produk dari bakteri ini akan menyerang dan masuk kedalam jaringan yang menyebabkan terjadinya kontak antara bakteri dengan berbagai sel hospes termasuk monosit dan makrofag. Periodontitis ditandai dengan adanya pembentukan kantong- kantong (poket), bersama- sama dengan terjadinya perusabut- serabut ligament ligamen periodontal yang mengikat gigi pada tulang alveolar (Newman *et al.*, 2015).

Tahapan terjadinya penyakit periodontal diawali dengan gingivitis yang secara klinis dikategorikan dalam *initial*, *early*, *established stage*, serta *advanced stage* yang menandai terjadinya periodontitis (Newman *et al.*, 2015).

Respon inflamasi pada penyakit periodontal termasuk aktivasi leukosit, neutrofil, T-limfosit dan sel plasma dan pelepasan antibodi, lipopolisakarida dan mediator inflamasi kimia yang termasuk sitokin, kemokin dan protein C-reaktif. Lipopolisakarida hadir dalam dinding sel bakteri gram negatif dan bertindak sebagai stimulan kuat untuk respons hospes yang kompleks. Inisial peningkatan kehadiran neutrofil di sini diikuti oleh pelepasan sitokin oleh neutrofil dan makrofag. Bahan kimia mediator yang dilepas

termasuk tumor necrosis factor alpha (TNF α), interleukin-1 (IL-1) dan prostaglandin. Peradangan proses termasuk stimulasi fibroblast oleh IL-1 dan sekresi matriks metalloproteinase (MMPs, yang kolagenase adalah yang paling menonjol) oleh neutrofil polimorfonuklear. MMP bertanggung jawab atas peningkatan kerusakan kolagen, dan TNF- α terutama bertanggung jawab untuk peningkatan aktivitas osteoklas menghasilkan resorpsi tulang. MMPs juga dapat mengaktifkan sitokin dan kemokin, memperburuk proses destruktif. Kolagen produksi dihambat oleh berkurangnya aktivitas fibroblas di Menanggapi TNF- α . Limfosit melepaskan antibodi sebagai mekanisme protektif tetapi juga mengaktifkan osteoklas, menghasilkan keropos tulang. T-limfosit mensekresikan aktivator reseptor dari faktor nuklir kappa-B ligan (RANKL), yang terlibat dalam aktivitas osteoklas dan karenanya resorpsi tulang. Mediator inflamasi yang merusak ini dihambat oleh sekresi osteoprotegerin dan inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMPs). Tingkat kerusakan periodontal tergantung pada keseimbangan antara mediator inflamasi yang merusak dan protektif. Sementara bakteri periodontal diperlukan untuk penyakit periodontal infeksi, respons individu menentukan perkembangan penyakit. Secara *in vitro*, telah ditemukan bahwa respon individu dipengaruhi oleh signaling genetic jalur yang mempengaruhi ekspresi mediator inflamasi dalam menanggapi lipopolisakarida bakteri (Francis *et al.*, 2009)

2.5 Periodontitis Kronis

Salah satu bentuk penyakit periodontitis yang paling sering

terjadi adalah periodontitis kronis. Periodontitis kronis merupakan penyakit yang secara progresif berjalan lambat. Penyakit ini disebabkan oleh faktor lokal dan sistemik. Walaupun periodontitis kronis merupakan penyakit yang paling sering ditemui pada orang dewasa, tetapi ternyata juga dapat terjadi pada anak-anak dan remaja sebagai respon terhadap akumulasi plak dan kalkulus secara kronis.

Periodontitis kronis diklasifikasikan berdasarkan tingkat keparahannya dan tempatnya. Berdasarkan keparahannya meliputi periodontitis ringan yaitu kehilangan perlekatan sebesar 1-2 mm, periodontitis sedang kehilangan perlekatan sebesar 3-4 mm, dan periodontitis parah kehilangan perlekatan ≥ 5 mm. Sedangkan berdasarkan tempatnya dibagi menjadi 2 klasifikasi yaitu periodontitis lokal yang melibatkan $< 30\%$ jaringan periodontal dan periodontitis general melibatkan $> 30\%$ jaringan periodontal (Newman *et al.*, 2015).

2.6 Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

2.6.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Porphyromonas gingivalis* adalah phylum: *bacteriodes*, klas: *bacteriodes*, ordo: *bacteroidales*, famili: *Porphyromonadacea*, genus : *Porphyromonas*, spesies *Porphyromonas gingivalis* (Utomo, 2017).

2.6.2 Morfologi

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* berbentuk *coccobacilli* dengan panjang 0,5 - 2 μm . Bakteri ini merupakan bakteri obligat anaerob, gram negatif, non-fermentasi, yang tidak berspora (*non* -

spore forming), *pleomorphic* terutama berbentuk batang pendek dan tak punya alat gerak (*non motile*). Koloni bakteri ini bila terdapat pada agar darah tampak lembut, berkilauan dan terlihat cembung serta 1- 2 mm di dalam garis tengah dan menggelap dari tepi koloni ke pusat diantara 4 - 8 hari. Terkadang warna koloni berubah menjadi hitam akibat produksi yang berlebih dari protohaem (Muarofah, 2015). Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dapat tumbuh optimum pada suhu 36,8- 39°C dengan pH antara 7.5- 8.0. Pertumbuhan yang signifikan dapat dipengaruhi oleh adanya karbohidrat. Substrat nitrogenous seperti *proteose peptone*, *trypticase* dan ekstrak *yeast* dengan nyata dapat meningkatkan pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (Muarofah, 2015).

Gambar 2.1 *Porphyromonas gingivalis*



Porphyromonas gingivalis sering ditemukan dalam rongga mulut, di mana terlibat dalam bentuk-bentuk tertentu dari penyakit periodontal serta saluran pencernaan bagian atas, saluran pernapasan, dan usus besar. Degradasi kolagen yang diamati pada penyakit

periodontal kronis merupakan hasil dari sebagian enzim kolagenase dari spesies ini . Hal ini ditunjukkan dalam studi in vitro bahwa *Porphyromonas gingivalis* dapat menyerang fibroblast gingiva manusia dan dapat bertahan hidup di dalamnya walau ada konsentrasi antibiotik yang cukup . *Porphyromonas gingivalis* juga menyerang sel-sel epitel gingiva dalam jumlah tinggi , di mana kasus kedua bakteri dan sel-sel epitel bertahan untuk waktu yang lama . Tingginya kadar antibodi spesifik dapat dideteksi pada pasien dengan *Porphyromonas gingivalis* (Muarofah, 2015).

2.6.3 Korelasi *Porphyromonas gingivalis* sebagai periodontopatogen utama pada periodontitis kronis

Bakteri ini banyak ditemukan dalam plak gigi di rongga mulut yang membuat keterlibatan didalam petogenesis periodontitis yang memberi dampak kehancuran jaringan penyangga gigi yang pada akhirnya beresiko pada kehilangan gigi (Newman *et al.*, 2015). *Porphyromonas gingivalis* memberikan efek perubahan patologik jaringan periodontal dengan aktivasi respons imun dan kehilangan inflamatori. Bakteri tersebut memproduksi berbagai faktor virulensi yang bersifat patogenik diantaranya lipopolisakarida dan hydrogen sulfide, yang mampu menginduksi hospes untuk melepaskan IL-1 dan TNF- α . Lipopolisakarida *Porphyromonas gingivalis* menginduksi sitokin proinflamasi, seperti IL- 1 β , IL-6, dan IL-8, yang menyebabkan kerusakan jaringan periodontal (Utomo, 2017).

2.6.4 Metabolisme

Porphyromonas gingivalis membutuhkan hemin, hasil akhir

metabolik darah sebagai sumber zat besi, serta pepida untuk pertumbuhan. Dilanjutkan dengan bakteri yang mengikat hemin pada permukaan sel dan menstansportasikan seluruh molekulnya ke dalam sel dimana dalam mekanisme tersebut membutuhkan sebuah energi. Dalam hal ini memenuhi kebutuhan tersebut bakteri menghasilkan tiga hemaglutinin yang bekerja dalam interaksi perlekatan dengan hospes dan lima proteinase yang berkontribusi untuk menginaktifkan molekul efektor pada respon imun juga dalam destruksi jaringan (Utomo, 2017).

2.6.5 Mekanisme perlekatan *Porphyromonas gingivalis* pada hospes

Mekanisme perlekatan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dibantu berbagai faktor virulensi yang berhubungan dengan destruksi jaringan dan mekanisme pertahanan terhadap inang. Terdapat 4 mekanisme perlekatan bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Mysak *et al.*, 2014).

Berikut mekanismenya:

a) Fimbriae

Sebagai perantara utama dalam perlekatan bakteri ke substrat yang tersedia, selain itu juga memiliki sifat kemotaktik dan induksi sitokin yang juga terlibat dalam pathogenesis. Fimbriae pada permukaan sel bakteri sering disebut sebagai hidrofobin yang bertugas terhadap interaksi bakteri dengan sel hospes. Bakteri yang mempunyai protein dengan sifat hidrofob lebih mudah difagosit oleh sel-sel polimorfonuklear leukosit.

b) Protease

Terutama arginine- spesifik, yang disebut gingipain, mampu mendegradasi molekul inang seperti immunoglobulin, komplemen, protein sekuester hemin, hemolisin, kolagenase, dan protein jaringan ikat inang. Serta berperan dalam jalur tidak langsung untuk menghancurkan dengan mendegradasi inhibitor yang dihasilkan sel inang untuk mengatur protease sel inang yang terlibat dalam inflamasi.

c) Hemaglutinin

Akan menginisiasi kolonisasi dengan cara memperantarai pengikatan bakteri dengan reseptor (biasanya oligosakarida) pada sel manusia, karena bakteri ini membutuhkan hemin untuk pertumbuhan, ada ikatannya dengan eritrosit sel tubuh manusia juga memberikan fungsi nutrisi. Hemaglutinin dan fimbriae mempunyai arti sebagai adhesin untuk perlekatan bakteri gram negatif pada sel hospes

d) Kapsular polisakarida

Bekerja menghambat fagositosis oleh sel imun inang serta berperan penting dalam perlekatan sel. Untuk memudahkan bakteri bepenetrasi ke jaringan dan mengganggu aktivitas sel tubuh, maka bakteri menghasilkan produk akhir metabolik meliputi butir-butir dan propionat yang memiliki berat molekul rendah. Mekanisme perlawanan bakteri terhadap sel inang, yaitu dihasilkannya asam suksinat yang akan menghambat kemotaksis neutrofil, dengan cara menurunkan pH intrasel pada neutrofil serta menghambat pergerakan

respon PMN terhadap peptide kemotaktik dengan cara mendepolarisasi membran PMN.

2.6.6 Identifikasi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Tes yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* antara lain adalah tes pewarnaan gram untuk menemukan bakteri gram positif atau negatif dan tes oksidase.

2.6.6.1 Uji Pewarnaan Gram

Untuk mengidentifikasi bakteri yang merupakan mikroorganisme transparan, dan sulit untuk dilihat secara langsung maka digunakan tes dengan pewarnaan gram. Struktur dari dinding sel bakteri dapat mempengaruhi perbedaan dari hasil pewarnaan gram positif dan negatif, tergantung dari reaksi dinding sel terhadap tinta safranin atau kristal violet (Andrew, 2012).

Pada pewarnaan gram untuk bakteri gram negatif didapatkan warna merah dan pada gram positif ditemukan ungu kebiruan. Bakteri dapat dilihat dengan mikroskop untuk melihat bentuknya. Prinsip dari pewarnaan gram ini adalah kemampuan dinding sel terhadap warna dasar (Kristal Violet) setelah dilakukan pencucian alkohol 96%. Pewarnaan pada bakteri gram positif adalah warna ungu kebiruan karena mengikat kristal violet lebih kuat sedangkan bakteri gram negatif mengandung lebih banyak lipid sehingga pori-pori akan lebih membesar dan melarutkan kristal violet ketika pencucian. Warna merah pada

bakteri gram negatif didapatkan dari hasil larutan safarin yang dilakukan pada tahap akhir pewarnaan (Darmawanti, 2010).

2.6.6.2 Uji Oksidase

Uji oksidase digunakan untuk menentukan ada atau tidaknya enzim oksidase yang dimiliki oleh bakteri. Enzim oksidase memiliki peran penting dalam perpindahan elektron selama respirasi aerob. Enzim oksidase dihasilkan oleh bakteri aerob, fakultatif anaerob, dan mikroaerofilik (Raharja, 2013).

Mikroorganisme ini menggunakan oksigen sebagai penghantar terakhir selama penguraian karbohidrat untuk menghasilkan energi. Kemampuan bakteri memproduksi sitokrom oksidase dapat diketahui dari reaksi yang timbul setelah pemberian reagen oksidase pada koloni bakteri. Enzim ini merupakan bagian dari kompleks enzim yang berperan dalam proses fosforilasi oksidatif. Reagen yang digunakan yaitu, p-aminodemetil anilina oksalat 1% atau dengan menggunakan *oxidase test strip* dengan cara sekali pengulangan ose bakteri. Enzim teroksidasi akan membentuk senyawa yang berwarna perubahan. Perubahan warna akan nampak pada test strip atau reagen yang didiamkan selama 10- 60 detik. Positif jika terjadi perubahan warna ungu kebiruan yang menandakan bakteri menghasilkan enzim sitokrom oksidase. Tidak adanya perubahan warna mengindikasikan bahwa uji yang dilakukan negatif (Raharja, 2013).

2.6.6.3 Uji Agar Mac Conkey

Agar *mac conkey* adalah media kultur untuk menumbuhkan bakteri gram negatif dan untuk membedakan kemampuan fermentasi laktosa. Media dilengkapi dengan karbohidrat (laktosa), garam empedu sebagai pH indikator yang mampu membedakan bakteri enterik. Ada dua kelompok bakteri enterik (Darmawanti, 2010):

- a. Disentri, tifoid, paratifoid tidak memfermentasi laktosa, ada tidak ada hasil asam, warna yang ditimbulkan adalah transparan atau tidak berwarna
- b. Coliform basil menghasilkan asam dari hasil fermentasi laktosa. Warna yang ditimbulkan adalah warna merah.

2.7 Chlorhexidine Gluconate

Chlorhexidine mengandung fenol yang memberikan efek bakteristatik pada kadar 0,4 – 1,6 % dan bakteriosidal pada kadar yang lebih tinggi. Kandungan bahan dasar chlorhexidine merupakan desinfektan tingkat tinggi karena sangat aktif pada semua bakteri, virus, fungi, parasit, dan beberapa spora lainnya. Chlorhexidine dapat menyerap ke tempat yang bermuatan negatif, seperti pada beberapa komponen biofilm pada permukaan gigi, misalnya bakteri. Interaksi ini akan meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri yang menyebabkan terjadinya penetrasi dalam sitoplasma yang dapat menyebabkan kematian pada mikroorganisme (Rabbani, 2014)

Pemilihan *chlorhexidine* 0,2 % sebagai antiseptik untuk penyakit periodontal sudah dipakai sejak lama. *Chlorhexidine*

memiliki efektivitas dalam menghambat bakteri dengan kadar yang kecil, dan dapat membunuh bakteri dalam kadar yang besar dibandingkan dengan antiseptik yang lain. Selain itu aman pada saluran pencernaan jika dipakainya dalam jangka panjang (Eley, 2010).

Penggunaan *chlorhexidine* sebagai antiseptik ternyata diketahui memiliki efek samping jika digunakan dalam jangka waktu yang lama, seperti pewarnaan pada gigi, adanya sensasi dan rasa yang tidak enak (Marsh *et al.*, 2009).

Efek negatif yang paling banyak dikeluhkan oleh pasien pengguna *chlorhexidine* adalah munculnya noda pada gigi, mulut dan mukosa pipi setelah 2 minggu pemakaian. Selain itu, berkumur dengan menggunakan *chlorhexidine* juga dapat menimbulkan iritasi pada mukosa mulut, sensasi terbakar, dan perubahan persepsi rasa (Gurgan *et al.*,2006). Dalam satu kasus pernah dilaporkan bahwa *chlorhexidine* dapat menyebabkan suatu reaksi alergi pada kulit, yaitu *urtikaria*. Reaksi ini muncul pada pasien setelah berkumur dengan *chlorhexidine* (Sharma *et al.*,2009).

Chlorhexidine sebagai agen antimikroba menyerang bakteri gram positif, bakteri gram negatif, jamur, virus termasuk virus hepatitis B dan HIV. Di dalam rongga mulut, *chlorhexidine* berguna melawan bakteri *S.mutans*, *S. aureus*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella intermedia* (Balgopal *et al.*, 2013).

Chlorhexidine telah terbukti efektif mengurangi jumlah koloni bakteri pada hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-30. Berkumur dengan *chlorhexidine* 0,2% dua kali sehari sebanyak 10 ml dapat

menurunkan skor plak sebesar 85% dan skor perdarahan sebesar 77% pada hari ke-7. *Chlorhexidine* 0,12% efektif menekan jumlah bakteri aerob dan anaerob fakultatif dalam mulut sampai 97% (Valdes *et al.*, 2016).

Bentuk formulasi *chlorhexidine* adalah sebagai berikut (Balgopal *et al.*, 2013):

1. Obat kumur

Obat kumur *chlorhexidine* tersedia dalam konsentrasi 0,2% dan 0,12%. Waktu berkumur adalah 30–60 detik tergantung nilai adsorpsi antiseptic pada permukaan mulut.

Gambar 2.2 *Chlorhexidine* obat kumur



Sumber: Nobre, 2009

2. Gel

Konsentrasi gel yang tersedia bervariasi yakni 1%, 0,2%, dan 0,12%. Aplikasi gel dilakukan sekali sehari untuk memberikan efek terapeutik seperti mengurangi bau mulut dan stain.

3. Pasta gigi

Efek antiplak pasta gigi yang sama dengan obat kumur adalah pada konsentrasi 0,12% dengan satu bagian per juta fluor.

4. *Spray*

Inhibisi plak pada obat kumur 0,2% sama dengan 0,1% dan 0,2% *spray*. Hal ini digunakan pada pasien yang kelainan fisik dan mental.



Sumber: Nobre, 2009

5. *Varnish*

Chlorhexidine varnish digunakan untuk profilaksis karies akar.

6. Permen karet bebas gula

Permen karet bebas gula mengandung 20 mg *chlorhexidine diacetate* dan disarankan mengunyah dua biji dua kali selama 10 menit.

7. Diirigasikan ke daerah subgingival.

Untuk mengirigasikan bahan anti plak berupa cairan ke daerah subgingival dipergunakan alat irigasi mulai alat yang sederhana, berupa alat suntik biasa yang jarumnya dibengkokkan dan ujungnya ditumpulkan, baik atau layak untuk irigasi khususnya yang diproduksi oleh pabrik. Irigasi subgingival tidak saja dilakukan oleh dokter gigi di klinik tetapi juga bisa dilakukan oleh pasien sehari-hari di rumah. Dasar pemikiran bagi irigasi subgingival adalah bahwa cara berkumur atau semprotan tidak efektif mencapai subgingival. Pada kasus periodontitis justru mikroorganisme subgingival yang harus disingkirkan dalam rangka mengontrol inflamasi yang terjadi masih terus dilakukan penelitian, namun ada kesan sementara bahwa irigasi subgingival ini akan sangat bermanfaat bagi perawatan periodontal.

Gambar 2.4 *Chlorhexidine* Subgingival



Sumber: Nobre, 2009

2.8 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Keefektifan antimikroba terhadap bakteri berhubungan dengan konsep KHM. KHM adalah konsentrasi antimikroba terendah yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri. KHM sangat penting dalam diagnosis laboratoris untuk mengkonfirmasi resistensi mikroorganisme terhadap bahan antimikroba dan juga untuk memonitor aktivitas bahan antimikroba baru. KHM biasanya berkenaan dengan pengukuran laboratoris dasar dari aktivitas bahan antimikroba yang melawan mikroba (Utomo, 2017).

2.9 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu bahan dapat diukur untuk menentukan kemampuan suatu bahan untuk melawan bakteri, mendeteksi mekanisme resistensi bakteri, dan mengukur interaksi bahan dengan mikroorganisme. Penentuan aktivitas bahan antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu (Utomo, 2017):

2.9.1 Metode difusi

Metode difusi yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan di atas medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah inkubasi, diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme tertentu.

Metode difusi dipengaruhi banyak faktor fisik dan kimia

selain interaksi sederhana antara obat dan organisme (misal, sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekuler dan stabilitas obat) (Nuraina, 2015).

Metode difusi dibagai menjadi beberapa cara, yaitu (Nuraina, 2015):

1. Metode Silinder Gelas

Metode silinder yaitu, meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.

2. Metode Cakram Kertas

Metode cakram kertas yaitu, meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

3. Metode Cetak Lubang (metode sumur)

Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan

bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.

2.9.2 Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Medium akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi.

Tujuan dari akhir metode dilusi adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlakukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji kerentanan dilusi agak membutuhkan waktu yang banyak, dan kegunaannya terbatas pada keadaan tertentu. Keuntungan uji dilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme yang diuji (Nuraina, 2015).

2.10 Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L)

2.10.1 Deskripsi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L)

Belimbing wuluh atau *Averrhoa bilimbi* (L.) biasa disebut pohon mentimun termasuk dalam famili Oxalidaceae dan tumbuh di daerah tropis (Amerika Tengah, Asia dan Kepulauan Karibia) (Ramsay, 2015).

Indonesia salah satu negara yang kaya akan tanaman yang memiliki banyak manfaat belimbing wuluh termasuk dalam spesies dari keluarga *averrhoa* dan tanaman yang belum dibudidayakan

secara khusus. Populasi tanaman ini sangat melimpah, karena pada umumnya belimbing wuluh ditanam dalam bentuk kultur pekarangan sebagai usaha sambilan atau tanaman peneduh di halaman rumah. Keuntungan tanaman ini adalah salah satu jenis tanaman tropis yang dapat berbuah sepanjang tahun. Belimbing wuluh atau belimbing sayur dapat hidup pada ketinggian 5- 500 meter di atas permukaan laut, yang kadang tumbuh liar atau ditanam sebagai pohon buah. Tanaman ini dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 5-10 meter dengan batang utama yang pendek, letak cabang rendah, bergelombang dan diameter batang sekitar 30 cm. Pohon ini tumbuh di tempat yang terkena cahaya matahari langsung dan cukup lembab (Liantari, 2014).

Anak daun belimbing wuluh bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau dan permukaan bawah warnanya lebih muda. Daun belimbing wuluh majemuk, menyirip ganjil dengan 21 sampai 45 pasang anak daun yang berselang-seling atau setengah berpasangan dan berbentuk oval (Liantari, 2014)

Gambar 2.5 Daun Belimbing Wuluh



Sumber: Lathifah, 2008

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) merupakan salah satu jenis tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional. Belimbing wuluh mengandung vitamin C alami yang bermanfaat sebagai perlindungan terhadap berbagai penyakit dan penambah daya tahan tubuh. Beberapa penyakit seperti, gusi berdarah, sakit gigi, rematik, diabetes, batuk, gondongan, sariawan, jerawat, diare, dan tekanan darah tinggi. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah buah dan daunnya (Liantari, 2014).

2.10.2 Kandungan Daun Belimbing Wuluh

Daun belimbing wuluh mengandung berbagai macam zat, salah satunya berpotensi sebagai senyawa antibakteri (Masduqi, 2017). Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin (Liantari, 2014). Kandungan

saponin tertinggi berada pada organ buah (Fahrnida *et al.*, 2015).

Tabel 2.1 Kandungan kimia dalam daun belimbing wuluh

Kandungan	Komponen (%)
Saponin	10,0
Tanin	6,0
Glukosid	14,5
Kalium oksalat	17,5
Sulfur	2,5
Asam format	2,0
Peroksida	1,0

Sumber: Iptek, 2007

1. Flavonoid

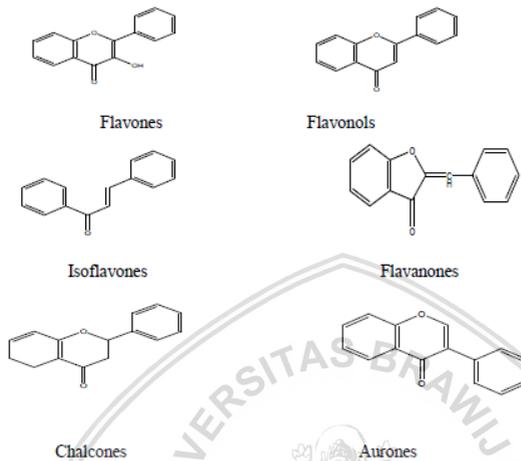
Hasil uji yang telah dilakukan oleh Parubak (2013) diperoleh dengan penentuan kadar flavonoid yang menunjukkan berpotensi sebagai senyawa antibiotik, antibakteri, anti kanker, dan antibiotik. Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme. Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki bermacam-macam efek antara lain efek antioksidan, anti tumor, anti radang, antibakteri dan anti virus (Parubak, 2013).

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang

terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau neoflavonoid. Senyawa-senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis tergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propane dari sistem 1,3-diarilpropana. Flavon, flavonol dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan dalam sehingga sering disebut sebagai flavonoida utama. Banyaknya senyawa flavonoida ini disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi dari struktur tersebut. Penggolongan flavonoid berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil ditunjukkan pada Gambar 2.6 (Gafur *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat, atau campuran dari pelarut tersebut dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan. Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan ekstraksi (Gafur *et al.*, 2014).

Gambar 2.6 Jenis – jenis Flavonoid



Sumber: Gafur *et al.*, 2014

Senyawa aktif flavonoid di dalam daun belimbing wuluh memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen. Keadaan ini menyebabkan struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil sehingga sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya. Selanjutnya, fungsi permeabilitas sel bakteri akan terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri. Komponen fenol juga dapat menyebabkan kerusakan dinding sel (Liantari, 2014).

Saat terjadinya kerusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai

menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan membran sitoplasma akan bocor dan pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan sampai kematian bakteri. Kerusakan pada membran sitoplasma mencegah masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan untuk menghasilkan energy (Liantari, 2014).

2. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa jika digosok dalam air sehingga bersifat sabun dan memiliki efek antibakteri (Utomo, 2017).

Saponin merupakan senyawa yang memiliki tegangan permukaan yang kuat yang berperan sebagai antimikrobia dengan mengganggu kestabilan membrane sel bakteri yang menyebabkan lisis sel. Hal ini disebabkan karena saponin yang merupakan senyawa semipolar dapat larut dalam lipid dan air, sehingga senyawa ini akan terkonsentrasi dalam membrane sel microbial (Fahrunnida *et al.*, 2015).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Ngajow *et al.*, 2013).

3. Tanin

Senyawa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan yang terpisah dari protein dan enzim sitoplasma. Senyawa ini tidak larut dalam pelarut non polar, seperti eter, kloroform dan benzena tetapi mudah larut dalam air, dioksan, aseton dan alkohol serta sedikit larut dalam etil asetat. Tanin merupakan himpunan polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dari fenol-fenol lain karena kemampuannya mengendapkan protein. Senyawa ini mempunyai aktivitas antioksi dan menghambat pertumbuhan tumor. Tumbuhan yang mengandung tanin antara lain daun teh, daun jambu biji dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi Linn*). Senyawa tanin dapat digunakan sebagai anti diare dan antipiretik (Liantari, 2014).

Senyawa tanin merupakan senyawa turunan fenol yang secara umum mekanisme antimikrobanya dari senyawa fenol. Tanin merupakan *growth inhibitor*, sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh tanin. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel. Senyawa ini merupakan zat kimia yang terdapat dalam tanaman yang memiliki kemampuan menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel kuman gram positif maupun gram negatif. Aktivitas tanin sebagai antimikroba dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu menghambat enzim antimikroba dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel dan menginaktivasi enzim-enzim esensial atau materi genetik. Selanjutnya, senyawa tannin dapat membentuk kompleks dengan protein melalui interaksi hidrofobik

sehingga dengan adanya ikatan hidrofobik akan terjadi denaturasi dan akhirnya metabolisme sel terganggu (Liantari, 2014).

4. Triterpenoid

Mekanisme aktivitas anti-mikroba dari triterpenoid dengan merusak fraksi lipid membran sitoplasma, sehingga akan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel. Sebagai akibatnya membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Mekanisme kerja antibakteri tanin, flavonoid dan triterpenoid diduga mampu merusak membran sitoplasma dengan mekanisme kerja yang berbeda (Liantari, 2014).

2.10.3 Peran Daun Belimbing Wuluh Sebagai Antibakteri

Tanaman belimbing wuluh (*Averhoa bilimbi*) mempunyai kandungan senyawa aktif baik pada batang mengandung senyawa saponin, buah mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid dan daun mengandung senyawa aktif tannin. Senyawa flavonoid, terpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa antibakteri. Daun belimbing wuluh juga mengandung senyawa peroksida yang dapat berpengaruh terhadap antipiretik. Peroksida merupakan senyawa pengoksidasi dan kerjanya tergantung pada kemampuan pelepasan oksigen aktif dan reaksi ini mampu membunuh banyak mikroorganisme (Yahya *et al.*, 2014).

Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin, dan tannin. Pada daun belimbing wuluh selain tannin juga mengandung sulfur, asam format, kalsium oksalat dan kalium sitrat mikroorganisme (Yahya *et al.*, 2014).

2.11 Ekstraksi

Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan metode ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Gafur *et al.*, 2014).

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut tertentu yang dipilih dengan tujuan zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan dikumpulkan, dibersihkan, atau dicuci, dikeringkan dan dijadikan serbuk. Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari *simplisia* nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Pemilihan terhadap metode ekstraksi disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Pandey *et al.*, 2014).

Dalam proses ekstraksi, prinsip Ansel (Ansel, 2005) membagi proses ekstraksi dibedakan menjadi dua fase dasar, yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Fase pencucian adalah fase pertama, dimana sebagian bahan aktif berpindah ke dalam bahan pelarut. Semakin halus serbuk, maka semakin optimal jalannya proses pencucian. Fase ekstraksi merupakan fase dimana membram sel yang mengering dan menciut yang terdapat dalam ekstrak mula-

mula harus diubah dalam suatu keadaan yang memungkinkan suatu perlintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel. Hal itu terjadi melalui pembengkakan yang kemudian terbentuk ruang antar miselar, yang memungkinkan bahan ekstraksi mencapai ke dalam ruang sel secara osmose. Mengalirnya bahan pelarut ke dalam ruang sel menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Gaya yang berkerja adalah adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang mula- mula masih tanpa bahan aktif yang mengelilinginya. Bahan kandungan sel akana mencapai ke dalam cairan di sebelah luar selama difusi melintasi membran sampai terbentuknya keseimbangan konsentrasi antara larutan di sebelah dalam dan larutan di sebelah luar sel (Utomo, 2017).

Penyarian atau ekstraksi ada beberapa macam (Nabsyawati, 2013) :

1. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut

1) Cara dingin

- (1) Maserasi dan perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang dilakukan tanpa pemanasan atau pendinginan. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Meserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus- menerus). Remaserasi

berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

- (2) Perkolasi sendiri adalah ekstrak dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperature ruang. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2) Cara Panas

Ekstraksi yang menggunakan pelarut secara panas terdapat beberapa cara diantaranya refluks, soxhlet, digesti, infus, dekok.

- (1) Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.
- (2) Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- (3) Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengaduk kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruang, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40- 50 °C

- (4) Infus adalah ekstrak dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur(96- 98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit).
- (5) Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperature sampai titik didih.

2. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap minyak astiri dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilasi air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

Destilasi uap, bahan (simplisia) tidak tercelup ke air yang mendidih, namun dilewati uap air sehingga senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi. Destilasi uap dan air mendidih, senyawa kandungan menguap tetap kontinu ikut terdestilasi.

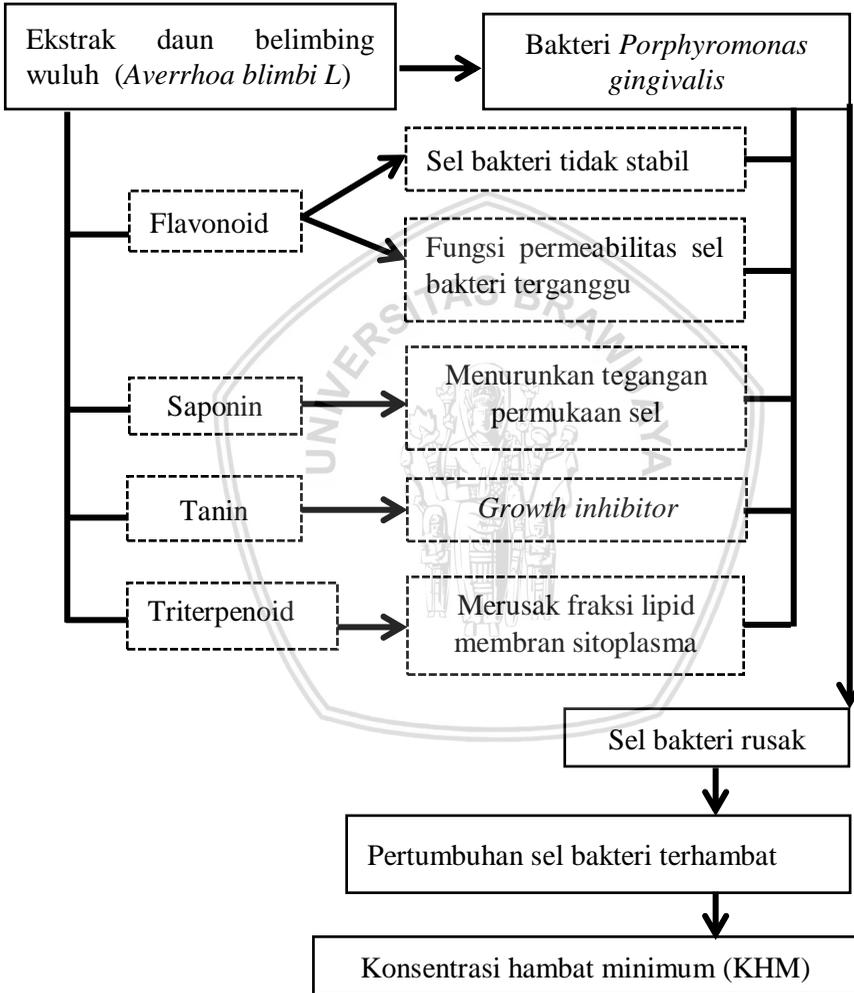
3. Cara ekstraksi lainnya

Cara ekstraksi lain yang dapat dilakukan selain dengan metode penggunaan larutan dan destilasi, ekstraksi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi berkesinambungan, superkritikal karbondioksida, ekstraksi ultrasonik, dan ekstraksi energi listrik.

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

: Variabel yang diteliti

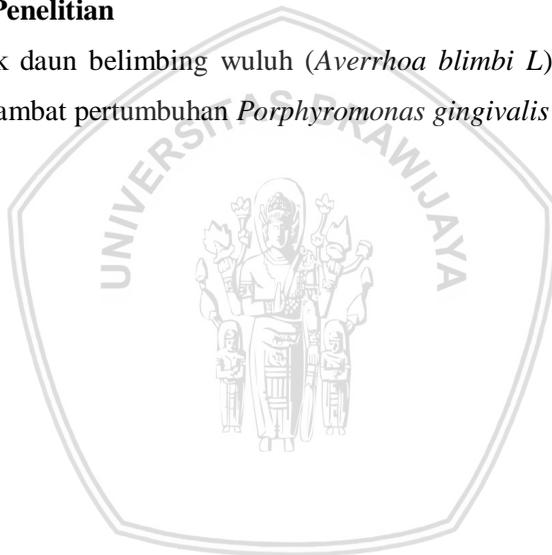
: Variabel yang tidak diteliti

Daun belimbing wuluh mengandung berbagai macam zat, salah satunya berpotensi sebagai senyawa antibakteri (Masduqi, 2017). Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin (Liantari, 2014). Senyawa aktif flavonoid di dalam daun belimbing wuluh memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen. Keadaan ini menyebabkan struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil sehingga sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya. Selanjutnya, fungsi permeabilitas sel bakteri akan terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri. (Liantari, 2014). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Ngajowa *et al.*, 2013). Tanin merupakan *growth inhibitor*, sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh tanin (Liantari, 2014). Mekanisme aktivitas anti-mikroba dari triterpenoid dengan merusak fraksi lipid membran sitoplasma, sehingga akan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel. Sebagai akibatnya membran atau dinding sel tidak terbentuk atau

terbentuk tidak sempurna. Mekanisme kerja antibakteri tanin, flavonoid dan triterpenoid diduga mampu merusak membran sitoplasma dengan mekanisme kerja yang berbeda (Liantari, 2014). Bakteri *Porphyromonas gingivalis* berbentuk *coccobacilli* dengan panjang 0,5 - 2 μm . Kemampuan keempat zat aktif tersebut menyebabkan hambatan pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) efektif sebagai daya hambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada bagian ini membahas tentang rancangan penelitian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Penelitian menggunakan *true experimental laboratory* dengan menggunakan desain penelitian *post test only control group design* yang berguna untuk melihat daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh dengan menggunakan etanol 96% pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan metode sumuran.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*

4.2.2 Sampel Penelitian

Agar tidak terjadinya bias pada hasil penelitian akan dilakukan pengulangan tiap kelompok. Banyaknya pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini dapat dilakukan menggunakan rumus Ferderer tahun 1997 (Utomo, 2017) :

$$p(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

p= jumlah perlakuan

n= jumlah ulangan yang diperlukan

Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi dari ekstrak daun belimbing dan dua kontrol bakteri ($p= 5+2= 7$) maka didapatkan jumlah pengulangan

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,1$$

(dibulatkan maka menjadi 4 kali pengulangan)

Pembagian kelompok perlakuan (Riabqo *et al.*, 2016):

- a) Kelompok A: ekstrak konsentrasi 100% = 4 sampel
- b) Kelompok B: ekstrak konsentrasi 50% = 4 sampel
- c) Kelompok C: ekstrak konsentrasi 25% = 4 sampel
- d) Kelompok D: ekstrak konsentrasi 12,5% = 4 sampel
- e) Kelompok E: ekstrak konsentrasi 6,25% = 4 sampel
- f) Kelompok F: kontrol positif (clorhexidie 0,2 %) = 4 sampel
- g) Kelompok G : kontrol negatif (akuades) = 4 sampel

Jumlah sampel = 28 sampel

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 6,25%, aquades, clorhexidien gluconate 0,2 %

4.3.2 Variabel Tergantung

Kemampuan ekstrak daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang dilihat dari zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening yang lebih terang dibandingkan dengan daerah sekitarnya pada media BHI- A

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Agustus - Oktober 2018

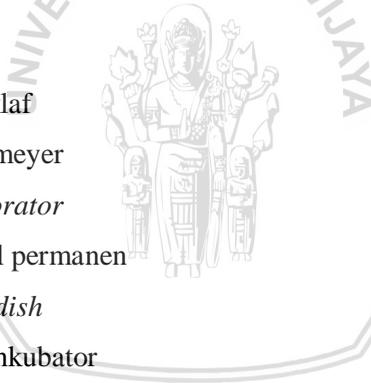
4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

1. Daun belimbing wuluh
2. *Aquades*
3. Etanol 96%
4. Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
5. Media cair *Brain Heart Infusion* (BHI)
6. Medium Mac Conkey agar
7. *Clorhexidine gluconate* 0,2%

4.5.2 Alat Penelitian

1. Autoklaf
2. Erlenmeyer
3. *Evaporator*
4. Spidol permanen
5. *Petri dish*
6. Alat inkubator
7. Jangka sorong
8. Tabung reaksi
9. Gelas objek
10. Bunsen
11. Mikroskop
12. Inkubator
13. Ose
14. *Oxidase test strip*



15. Candle jar
16. Mikropipet
17. Pelubang
18. Medium *Mac Conkey Agar*
19. Timbangan

4.6 Definisi Operasional

- a. Daun belimbing wuluh yang digunakan sebagai ekstrak diperoleh dari Laboratorium Materia Medika, Batu
- b. Ekstrak daun belimbing wuluh adalah ekstrak yang diperoleh dengan mengeringkan daun belimbing wuluh lalu dihaluskan dan dilakukan ekstraksi dengan pelarut etanol 96%
- c. Koloni *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
- d. KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) adalah konsentrasi terendah dari ekstrak daun belimbing wuluh yang menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (Utomo, 2017).
- e. *Porphyromonas gingivalis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang dimiliki oleh laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UB
- f. Efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh dengan cara menilai konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi terendah atau KHM dari ekstrak daun belimbing wuluh merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Indikator KHM

berdasarkan zona hambat pada media BHI- A yang terbentuk kemudian ditentukan diameter terpanjang dan terpendek dan diukur menggunakan jangka sorong (Riabqo *et al.*, 2016).

- g. Penyetaraan konsentrasi mikroba dengan *Mc Farland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml).

Manfaat standar kekeruhan *Mc farland* untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba (Aini, 2015).

4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan dat

4.7.1 Persiapan

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dalam autoklaf. *Petri disk* dan alat- alat lainnya (yang dapat disterilisasi) disiapkan dalam kondisi steril .

4.7.2 Uji Identifikasi Bakteri

Tes yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* antara lain adalah tes pewarnaan gram untuk menemukan bakteri gram positif atau negatif, tes oksidase untuk menentukan ada tidaknya enzim oksidase yang dimiliki bakteri, dan uji agar mac conkey untuk membedakan kemampuan fermentase laktosa.

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dapat dilakukan dengan cara (Dzen *et al*, 2003):

1. Dibuat sediaan (*slide*), dikeringkan di udara kemudian dilakukan fiksasi.
2. Sediaan dituangi Kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit.
3. Sisa bahan pewarna dibuang dan dibilas dengan air
4. Sediaan dituangi larutan lugol sebagai *mordant*, dibiarkan selama 1 menit
5. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan dituangi alkohol 96% sebagai peluntur selama 5-10 detik.
7. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dituangi safranin sebagai warna pembanding selama 30 detik.
9. Sisa safranin dibuang dan diilas dengan air
10. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak imersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 97-100x

4.7.2.2 Tes Oksidase (Lila, 2010)

1. Siapkan oksidase test strip
2. Ambil 1 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis*
3. Goreskan 1 ose *Porphyromonas gingivalis* pada oksidase test strip
4. Tunggu 10 detik, amati perubahan warna

5. Hasil positif : tercat ungu (menghasilkan enzim sitokrom oksidase)

4.7.2.3 Uji *Mac Conkey*

Uji agar Mac conkey dilakukan untuk mengisolasi dan membedakan bakteri Gram- negatif. Mekanisme dari uji ini dengan melihat fermentasi laktosa bakteri. Fermentasi laktosa pada bakteri pH sekitar koloni turun dan menyebabkan perubahan warna pada indikator pH. Inokulasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan metode streaking pada medium agar prosedur uji agar *Mac Conkey* :

Prosedur uji agar Mac Conkey antara lain (Acumedia, 2011):

1. Inkubasi bakteri pada incubator dengan suhu 37 °C selama 18- 24 jam lalu amati hasilnya
2. Bila warna media berubah menjadi merah, maka bakteri memfermentasi laktosa. Bila bakteri tidak menunjukkan perubahan warna pada media, bakteri tidak memfermentasi laktosa.

4.7.3. Prosedur Pembuatan Ekstrak daun belimbing wuluh dan Pengenceran Bahan Coba

Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun belimbing wuluh 500 gr dicampur dengan 600 ml etanol 96% dan dimasukkan ke dalam maserator berpengaduk elektirk. Maserasi dilakukan dengan pengaduk sebanyak 12 kali selama 15 menit dengan tenggang waktu 5 menit

antar pengadukan lalu disimpan dalam ruang gelap selama 120 jam (5 hari), setelah itu campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring berlapis untuk memisahkan filtrat dan ampas, diperoleh larutan ekstrak etanol daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 100%, hasil selanjutnya kemudian dievaporasi untuk memisahkan pelarut etanol dngan ekstrak dengan menggunakan evaporator. Hasilnya dioven (40°C) untuk menghilangkan sisa pelarut yang mungkin belum menguap. Hasil akhir inilah yang akan digunakan dalam percobaan yaitu ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 100% yang telah dipisahkan dengan pelarut etanol.

Pembuatan sediaan ekstrak daun belimbing wuluh untuk uji pendahuluan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

Keterangan:

V1: Volume larutan ekstrak yang diambil (ml)

C1: Konsentrasi ekstrak yang diambil (%)

V2: Volume larutan yang akan dibuat (ml)

C2: Konsentrasi larutan yang akan dibuat (%)

Perhitungan konsentrasi:

a) Konsentrasi (100%) : $V1 \times C1 = V2 \times C2$

$$: 1 \text{ ml} \times 100\% = V2 \times 100\%$$

$$V2 = 1 \text{ ml (konsentrasi 100\%)}$$

b) Konsentrasi (50%) : $V1 \times C1 = V2 \times C2$

$$: 1 \text{ ml} \times 100\% = V2 \times 50\%$$

$$: 1 \text{ ml} = 0,5 \times V2$$

$$V_2 = 2 \text{ (1 ml konsentrasi 100\% + 1 ml aquades)}$$

c) Konsentrasi (25%) : $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

$$: 1 \text{ ml} \times 50\% = V_2 \times 25\%$$

$$: 1 \text{ ml} = 0,5 \times V_2$$

$$V_2 = 2 \text{ (1 ml konsentrasi 50\% + 1 ml aquades)}$$

d) Konsentrasi (12,5%) : $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

$$: 1 \text{ ml} \times 25\% = V_2 \times 12,5\%$$

$$: 1 \text{ ml} = 0,5 \times V_2$$

$$V_2 = 2 \text{ (1ml konsentrasi 25\% + 1 ml aquades)}$$

e) Konsentrasi (6,25%) : $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

$$: 1 \text{ ml} \times 12,5\% = V_2 \times 6,25\%$$

$$: 2 \text{ ml} = 0,5 \times V_2$$

$$V_2 = 2 \text{ (1 ml konsentrasi 12,5\% + 1 ml aquades)}$$

4.7.4 Persiapan Kultur Bakteri Uji dan Suspensi Uji *Porphyromonas gingivalis*

Kultur bakteri uji yang akan digunakan disiapkan dengan cara mengambil satu ose bakteri dari BHI-A. kemudian diinokulasikan ke dalam 10 ml BHI-B steril. Selanjutnya divortek untuk meratakan bakteri di dalam BHI-B, lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam didapatkan inoculum yang langsung dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Nurainy, 2010).

Suspensi Uji *Porphyromonas gingivalis* (Murray *et al*, 1999):

1. Persiapkan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari media BHIB yang telah diuji konfirmasi
2. Ambil 5 koloni ($d \geq 1$ mm dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0,85% steril. Ukur Optical Density (OD) atau kepadatan optisnya 0,1 setara dengan standar 0,5 Mc Farland. Hasil yang diperoleh dibuat suspense sel yang mengandung 1×10^8 hingga 5×10^8 CFU/ml dengan rumus $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$
3. Ambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 1,95 CFU/ ml) untuk dicampur dengan 9,49 ml NaCl untuk mendapatkan suspense sel yang mengandung 10^8 CFU/ ml. Hasil ini akan digunakan untuk tes

4.7.5 Penentuan KHM Bahan Coba (Jannata, 2014)

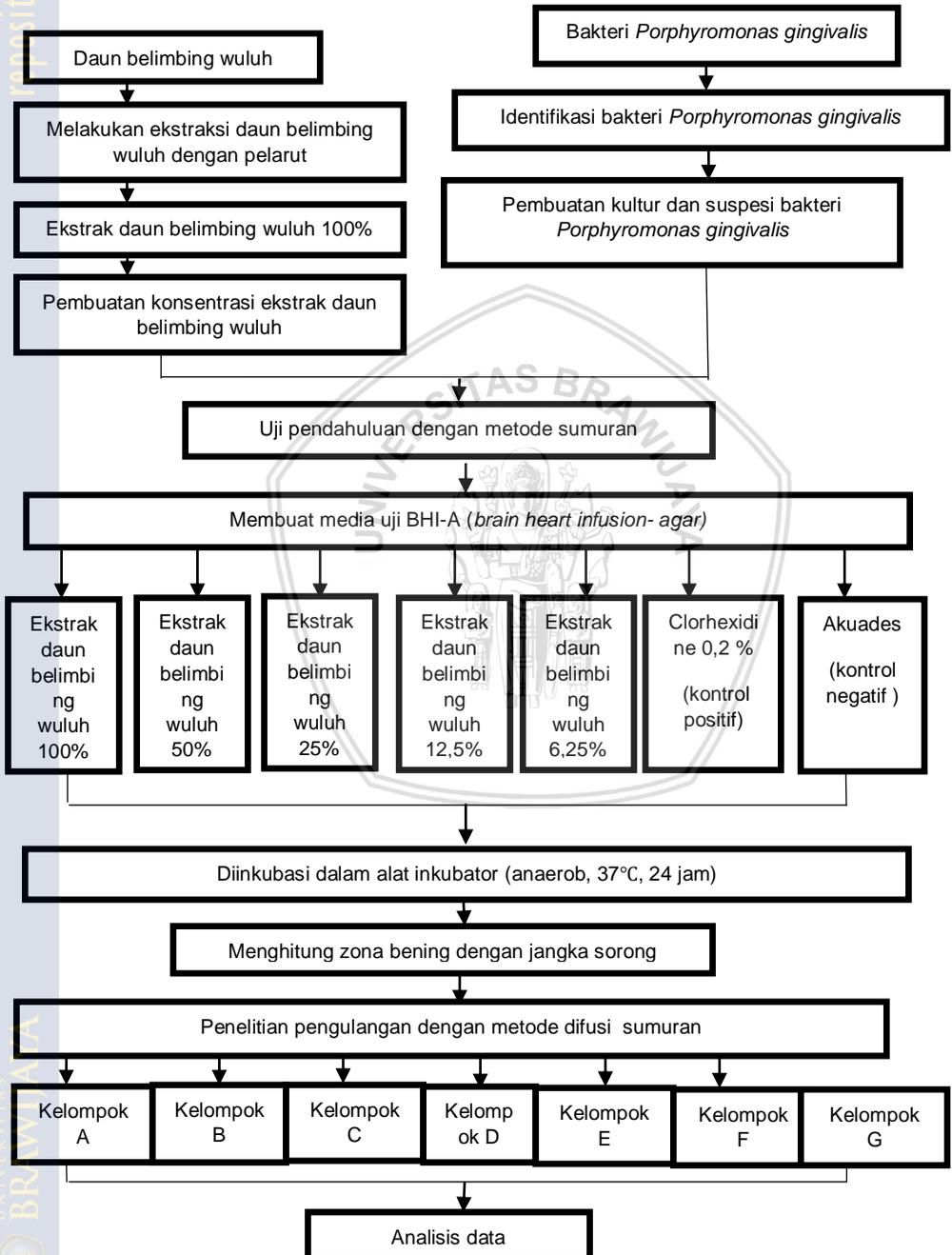
1. Bagian bawah petridish yang berisi media BHI-A dibagi menjadi 4 daerah
2. Tiap daerah diberi identitas masing- masing menggunakan spidol
3. Media BHI-A sebanyak 15 ml dituang ke dalam masing- masing petridish steril dan ditunggu sampai hangat sekitar 37°C
4. Inokulasi 1 ml suspense *Porphyromonas gingivalis* pada media BHI-A hangat lalu diaduk, tunggu hingga padat sekitar 15 menit

5. Pada setiap bagian lubang tersebut dibuat 1 lubang sumuran menggunakan perforator steril diameter 6 mm dengan kedalaman lubang sumuran 4 mm
6. Lalu diberikan pemberian 50 μ l ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% sebagai uji pendahuluan, kontrol positif, dan kontrol negatif pada setiap sumuran.
7. Media BHI-A yang telah diinokulasi *Porphyromonas gingivalis* dan diberi perlakuan, selanjutnya dimasukkan kedalam candle jar, lalu candle jar dimasukkan ke dalam incubator, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
8. Lakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong. Daerah zona hambat diukur dengan mengatur diameter keseluruhan daerah transparan
9. Dilakukan penentuan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh berdasarkan hasil uji pendahuluan, kemudian dilakukan uji daya antibakteri dengan menggunakan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang telah ditentukan
10. Lakukan pengukuran zona hambat, dan hasil dari pengukuran kemudian dianalisa. Zona hambat senyawa antimikroba dari ekstrak daun belimbing wuluh, diukur berdasarkan diameter (mm). penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji. Pengukuran diameter (mm) dilakukan menggunakan jangka sorong (ketelitian 0.05 mm) pada tujuh diameter zona hambat lalu dirata -rata

4.8 Analisis Data

Dilakukan empat kali pengulangan percobaan, kemudian hasil data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan anova. Uji normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro- Wilk* berguna untuk mengetahui data apakah berdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas dilakukan dengan uji *levene's test*. Uji statistic dilakukan dengan uji *one way ANOVA* untuk melihat perbedaan daya hambat masing-masing kelompok sampel. Setelah dilakukan uji *One- Way ANOVA*, dilakukan *Post Hoc Multiple Comparison Equal Variance by Tukey* untuk menentukan perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok dan uji korelasi *Person* untuk mengetahui hubungan dari pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap diameter zona hambat bakteri *Porphromonas gingivalis*. Setelah dilakukan uji korelasi *Pearson* dilakukan uji regresi untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data. Setelah dilakukan uji korelasi *Pearson* dilakukan uji regresi untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data.

4.9 Alur Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN HASIL DATA

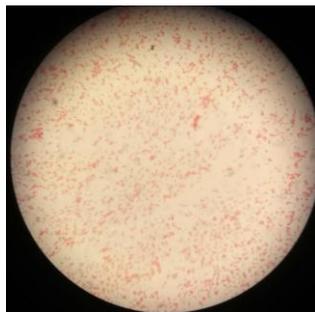
Dalam penelitian ini menggunakan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sebagai uji antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*). Sebelumnya akan dilakukan terlebih dahulu uji identifikasi untuk memastikan bakteri tersebut adalah benar *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, tes Oksidase, dan uji agar *Mac Conkey*.

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

5.1.1 Hasil Pewarnaan Gram

Uji identifikasi pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri gram negatif atau gram positif. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* tercatat warna merah (Gambar 5.1). hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah gram negatif.

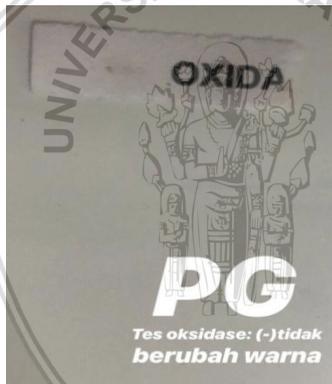
Gambar 5.1 Pengamatan mikroskop pewarnaan Gram Bakteri *Porphyromonas gingivalis* tercatat berwarna merah menandakan bakteri gram negatif.



5.1.2 Tes Oksidase

Tes Oksidase dilakukan dengan menyediakan oksidase test strip lalu digoreskan 1 ose *Porphyromonas gingivalis*. Dari hasil yang terlihat didapatkan hasil negatif yaitu oksidase test strip tidak berubah warna yang berarti, bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hal ini karena bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan anaerob obligat sehingga tidak menghasilkan enzim sitokrom oksidase.

Gambar 5.2 Hasil Tes Oksidase Terhadap *Porphyromonas gingivalis* menunjukkan oksidase test strip tidak berubah warna



5.1.3 Tes Mac Conkey

Uji agar Mac Conkey dengan menginkubasikan bakteri pada media agar Mac Conkey. Dari hasil yang didapatkan yaitu bakteri tidak berubah menjadi merah atau tidak menunjukkan perubahan warna pada media. Maka dapat disimpulkan bahwa bakteri tidak memfermentasi laktosa.

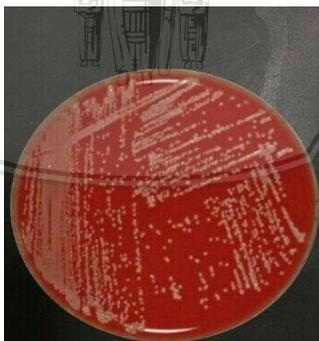
Dari uji agar *Mac Conkey* yang pertama peneliti lupa memasukkan ke dalam *candle jar* sehingga *Mac Conkey* gagal

Gambar 5.3 Uji Agar Mac Conkey yang pertama



Uji agar *Mac Conkey* yang kedua peneliti memasukkan ke dalam *candle jar* selama 24 jam sehingga uji *Mac Conkey* berhasil.

Gambar 5.4 Uji Agar Mac Conkey yang kedua



5.2 Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak daun belimbing wuluh menghasilkan ekstrak yang berwarna hijau tua, dengan

konsistensi seperti pasta cair (Gambar 5.5). Sebelum uji antibakteri dilakukan, terlebih dahulu dilakukan uji kontaminasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*). Pada hasil Uji kontaminasi ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh tidak terkontaminasi (Gambar 5.6).

Gambar 5.5 Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh



Gambar 5.6 Uji kontaminasi ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh tidak terkontaminasi



5.3 Uji Pendahuluan

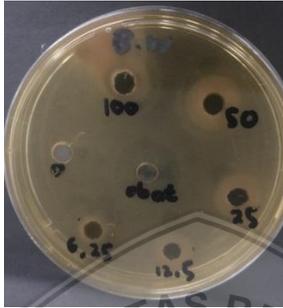
Setelah teruji ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) tidak terkontaminasi, dilakukan uji pendahuluan ini dilakukan untuk memperoleh rentang konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh seminimal mungkin. Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada uji pendahuluan ini adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dengan metode difusi sumuran (Gambar 5.7 dan 5.8).

Hasil uji pendahuluan pertama pada konsentrasi 100% adalah 15,0 mm, pada konsentrasi 50% adalah 15,1mm, pada konsentrasi 25% adalah 13,1 mm, pada konsentrasi 12,5% adalah 11,9 mm, pada konsentrasi 6,25% adalah 9,3 mm, pada kontrol postif adalah 19,3 mm, dan pada kontrol negatif 0mm (zona bening tidak ada).

Hasil uji pendahuluan kedua pada konsentrasi 100% adalah 17,7 mm, pada konsentrasi 50% adalah 16,8 mm, pada konsentrasi 25% adalah 15,8 mm, pada konsentrasi 12,5% adalah 12,5mm, pada konsentrasi 6,25% adalah 12,2 mm, pada kontrol postif adalah 21,7 mm, pada kontrol negatif 0mm (zona bening tidak ada).

Uji pendahuluan dilakukan sebanyak dua kali, dikarenakan uji pendahuluan pertama ekstrak tumpah sehingga untuk menghitung diameter zona hambat susah untuk dilakukan.

Gambar 5.7 Hasil Uji Pendahuluan Pertama



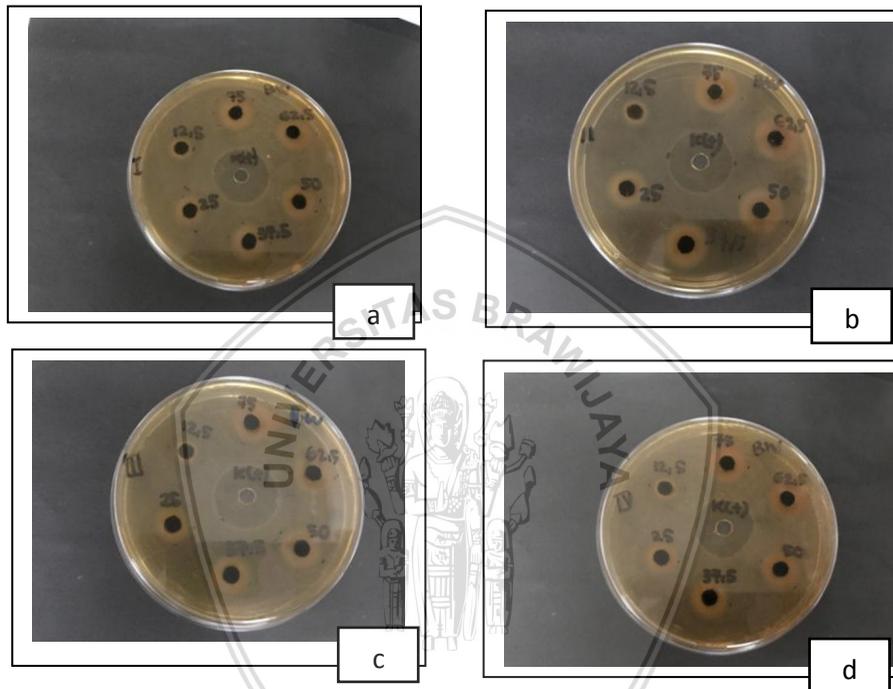
Gambar 5.8 Hasil Uji Pendahuluan Kedua



5.4 Hasil Uji Pengulangan Difusi Sumuran

Daya antibakteri dengan metode difusi sumuran diamati dari terbentuknya zona bebas bakteri atau zona bening yang mengelilingi sumuran yang disebut zona hambat. Pada uji pengulangan konsentrasi yang digunakan adalah 75%, 62,5%, 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, aquades (kontrol negatif) dan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif untuk mengetahui perbandingannya dengan ekstrak daun belimbing wuluh.

Gambar 5.9 Hasil Uji Pengulangan



Keterangan:

- a : Pengulangan Pertama
- b : Pengulangan Kedua
- c : Pengulangan Ketiga
- d : Pengulangan Keempat

5.5 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa macam konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yaitu 75%, 62,5%, 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, aquades (kontrol negatif) dan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif. Penentuan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan metode difusi sumuran. Perbedaan daya antimikroba ditentukan dengan besar zona hambat yang terbentuk pada medium BHI-A (*Bain Heart Infusion Agar*) yang telah dicampurkan dengan *Porphyromonas gingivalis* kemudian diberi ekstrak etanol daun belimbing wuluh dalam sumuran dan diinkubasi selama 24 jam.

Perubahan yang diamati pada penelitian ini yaitu terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri yang ada di sekeliling sumuran yang berisi ekstrak. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat yang diukur meliputi diameter bening sekitar sumuran. Hasil uji daya antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh pada masing-masing konsentrasi 75%, 62,5%, 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, aquades (kontrol negatif) dan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif dengan menggunakan metode difusi sumuran.

Berdasarkan hasil uji difusi sumuran dapat diukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Hasil perhitungan diameter

zona hambatan ekstrak daun belimbing wuluh disajikan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

Konesentrasi	Zona hambatan ekstrak daun belimbing wuluh (mm)				Rerata (mm)
	Pengulangan				
	I	II	III	IV	
<i>Clorhexidine gluconate</i> 0.2% (kontrol Positif)	22.5	21.1	21.7	21.5	21.7
Aquades (kontrol negatif)	0	0	0	0	0
12,5%	10.2	13	11.8	12.5	11.87
25%	15.1	15.5	14.1	13.1	14.45
37,5%	15.5	16.6	15.8	14.3	15.55
50%	16	17.4	16.9	15	16.32
62,5%	16.5	18.4	17.5	16.4	17.2
75%	17.4	20.2	18.1	17.3	18.25

Berdasarkan tabel dan gambar diatas dapat dilihat adanya perbedaan rerata diameter zona hambatan yang menunjukkan adanya perbedaan daya antibakteri pada masing- masing perlakuan. Kelompok perlakuan dengan *aquades* (kontrol negatif) tidak terdapat zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa *aquades* tidak memiliki daya antimikroba. Kelompok dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2%

menunjukkan adanya zona hambat dengan rerata 21,7 mm. Hal ini menunjukkan bahwa *chlorhexidine gluconate* 0,2% memiliki daya antimikroba yang besar sebagai kontrol pembanding, karena *chlorhexidine gluconate* memiliki daya antibakteri, karena kandungan fenol yang bersifat bakteriostatik pada kadar 0,2%-1%, bersifat bakterisid pada kadar 0,4-1,6%, dan bersifat fungisidal pada kadar 1,6% keatas (Zaenab *et al.*, 2004). Ekstrak etanol daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 75%, 62,5%, 50%, 37,5%, 25%, 12,5% juga menghasilkan zona hambat, yang menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi tersebut memiliki daya antimikroba terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Zona hambat sudah mulai terbentuk pada ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 12,5% dengan rerata 11,87 mm, sedangkan pada konsentrasi 75% dengan rerata 18,25 mm menunjukkan zona hamba terbesar.

5.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik yang diperoleh berdasarkan hasil perhitungan diameter zona hambatan pada BHI-A. Daya yang didapat dari hasil penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas varian. Uji ini menggunakan uji *Kolmogrov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Data yang didapat normal dan homogenitas, maka digunakan uji *One Way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji *post-hoc Multiple Comparison Equal Variance by Turkey* uji korelasi *Pearson*, dan uji regresi

5.6.1 Hasil Pengujian Normalitas dan Uji Homogenitas Varians Terhadap Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Tabel 5.2 Hasil Pengujian Normalitas *Shapiro- Wilk*

Konsentrasi	Rerata (mm)	Uji <i>Shapiro- Wilk</i> Angka Signifikan (p)
<i>Clorhexidine gluconate</i> 0.2% (kontrol Positif)	21.7	0,166
Aquades (kontrol negatif)	0	
12,5%	11.87	
25%	14.45	
37,5%	15.55	
50%	16.32	
62,5%	17.2	
75%	18.25	

Keterangan:

$p = 0,399$: distribusi normal ($p > 0,05$)

Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menentukan apakah bisa dilakukan uji *One Way ANOVA*. Untuk itu, dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogrov- Smirnov* dan *Shapiro- Wilk* lebih tepat dilakukan untuk data yang berjumlah kurang dari 50. Hasil uji normalitas didapatkan

bahwa signifikansi jumlah koloni bakteri sebesar 0,399 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh berdistribusi normal.

Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas Lavene

Konsentrasi	Rerata (mm)	Uji Lavene Angka signifikan (p)
<i>Clorhexidine gluconate</i> 0.2% (kontrol Positif)	21.7	0,179
Aquades (kontrol negatif)	0	
12,5%	11.87	
25%	14.45	
37,5%	15.55	
50%	16.32	
62,5%	17.2	
75%	18.25	

Ketereangan:

$P = 0,179$: data homogen ($p > 0,005$)

Setelah dilakukan uji normalitas, maka dilakukan uji homogenitas varian data menggunakan uji *Levene* untuk menguji apakah data homogen atau tidak. Hasil uji didapatkan signifikansi data sebesar 0,179 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data memiliki ragam variansi yang sama (homogen).

5.6.2 Analisis Hasil Perhitungan Terhadap Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Data yang telah diuji normalitas dan homogenitas selanjutnya dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*, untuk mengetahui adanya perbedaan sebagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh terhadap jumlah diameter zona hambat bakteri.

Tabel 5.4 Hasil Uji *One- Way ANOVA*

Konsentrasi	Rerata (mm)	Uji <i>One- Way ANOVA</i> Angka signifikan (p)
<i>Clorhexidine gluconate</i> 0.2% (kontrol Positif)	21.7	0,000
Aquades (kontrol negatif)	0	
12,5%	11.87	
25%	14.45	
37,5%	15.55	
50%	16.32	
62,5%	17.2	
75%	18.25	

Keterangan:

p= 0,000 : signifikan (p< 0,05)

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,000 (p< 0,005). Hal tersebut menunjukkan

bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap diameter zona hambat bakteri.

Setelah dilakukan uji One- Way ANOVA, dilakukan *Post Hoc Multiple Comparison Equal Variance by Tukey* untuk menentukan perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok dan uji korelasi Person untuk mengetahui hubungan dari pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap diameter zona hambat bakteri *Porphromonas gingivalis*.

Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc*

	<i>Clorhexidine gluconate</i> 0.2% (kontrol Positif)	Aquad es (kontrol negatif)	12,5 %	25%	37,5 %	50%	62,5 %	75%
<i>Clorhexidine gluconate</i> 0.2% (kontrol Positif)	-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,001
Aquad es (kontrol negatif)	0,00*	-	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
12,5%	0,00*	0,00*	-	0,021	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*
25%	0,00*	0,00*	0,021	-	0,755	0,171	0,012	0,00*
37,5%	0,00*	0,00*	0,00*	0,755	-	0,947	0,297	0,014
50%	0,00*	0,00*	0,00*	0,171	0,947	-	0,905	0,150
62,5%	0,00*	0,00*	0,00*	0,012	0,297	0,905	-	0,794
75%	0,001	0,00*	0,00*	0,00*	0,014	0,150	0,794	-

Keterangan:

*) Berbeda secara signifikan.

Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Konsentrasi	Rerata (mm)	Uji <i>Korelasi Pearson</i>	
		Angka signifikan	Hubungan Korelasi
<i>Clorhexidine gluconate</i> (kontrol Positif)	0.2% 21.7	0,000	0,821
Aquades (kontrol negatif)	6		
12,5%	11.87		
25%	14.45		
37,5%	15.55		
50%	16.32		
62,5%	17.2		
75%	18.25		

Berdasarkan hasil uji korelasi *Pearson*, dapat diketahui bahwa terdapat hubungan (korelasi) yang signifikan antara pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap diameters zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromnas gingivalis* dihasilkan pada medium BHI-A ($r=0,821$, $p= 0,000$). Kekuatan korelasi bernilai 0,821 dengan arah korelasi positif. Hal tersebut mempunyai makna bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh akan memperbesar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Poprhyromonas gingivalis* yang dihasilkan pada medium BHI-A

Setelah dilakukan uji korelasi *Pearson* dilakukan uji regresi untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data.

Tabel 5.7 Hasil Uji Regresi

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error
1	0,821 ^a	0,674	0,662	3.4645

Keterangan Tabel:

^aprediktor: (konstan), konsentrasi

Uji regresi berfungsi untuk mengetahui seberapa besar hubungan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Berdasarkan ringkasan pada table 5.7 (hasil dapat dilihat pada lampiran 2) diketahui bahwa R square 0,674 atau sebesar 67.4% . Angka tersebut menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* adalah sebesar 67.4% sedangkan sisanya sebesar 32,6% dapat disebabkan karena faktor yang tidak diteliti. Faktor tersebut bisa merupakan akibat dari pengaruh lingkungan seperti suhu, lama penyimpanan ekstrak atau akibat resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara konsentraso ekstrak dengan besarnya zona hambat dapat dinyatakan dengan rumus ;

$$Y = a + bX$$

$$Y = 6.171 + 0,192X$$

Dengan Y adalah interval zona hambat dan X adalah konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh. Hal ini menunjukkan

hubungan konsentrasi terhadap pembentukan zona hambat positif, yaitu dengan semakin bertambahnya besar konsentrasi maka semakin besar pula zona hambat yang akan terbentuk.



BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antimikroba ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) yang digunakan untuk penelitian ini didapatkan dari Materia Medika Batu. Daun belimbing wuluh yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan etanol 96% menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode ekstraksi maserasi mempunyai banyak keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu kamar (Puspitasari *et al.*, 2017). Penelitian ini menggunakan etanol karena etanol mempunyai titik didih yang rendah, cenderung aman, tidak beracun dan berbahaya (Janan, 2013). Harganya yang relatif lebih murah dan etanol juga dapat menarik senyawa- senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar dan memiliki indeks polaritas sebesar 5.2 (Prajnalaga *et al.*, 2018)

Pada uji pendahuluan, ekstrak daun belimbing wuluh yang digunakan adalah ekstrak dengan 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25, *chlorhexidine gluconate*, 0,2% dan aquades. Hasil uji pendahuluan

dengan metode difusi sumuran diketahui bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 12,5% sudah mulai menghambat pertumbuhan bakteri dan konsentrasi 50% mendekati diameter zona hambat *chlorhexidine gluconate*, 0,2%. Oleh karena itu, pada uji perapatan dipilih konsentrasi 75%, 62,5%, 50%, 37,5%, 25%, 12,5%, aquades dan *Chlorhexidine gluconate* 0,2%. Besar konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh memberikan pengaruh terhadap besar diameter zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 75% merupakan konsentrasi yang memiliki daya antimikroba paling efektif dan konsentrasi 12,5% memiliki daya antimikroba paling minimal terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Daya antimikroba ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 75% tergolong sedang, 62,5% tergolong sedang, 50% tergolong sedang, 37,5% tergolong lemah, 25% tergolong lemah, 12,5% tergolong tergolong lemah. Konsentrasi 75% tergolong sedang kemungkinan disebabkan terdapat senyawa yang aktif seperti flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin yang bekerja maksimal dikarenakan konsentrasi kandungannya yang besar, sedangkan konsentrasi 12,5% memiliki daya hambat yang lemah dikarenakan kandungan senyawa aktifnya lebih sedikit. Kriteria kekuatan daya antimikroba dapat dilihat pada tabel 6.1 (Mulyadi *et al.*, 2017).

Tabel 6.1 Kriteria kekuatan daya antimikroba

Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Kurang efektif

Untuk menganalisis data yang didapat maka dilakukan Uji One Way ANOVA. Namun sebelum memakai Uji One Way ANOVA, data harus dipastikan normal dan homogen. Maka digunakan Uji Shapiro-Wilk untuk memastikan data berdistribusi normal dan Uji Levene untuk memastikan data homogen. Kemudian menganalisis data dengan uji statistik parametrik One-way ANOVA dan diketahui bahwa nilai signifikansinya adalah 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti adanya perubahan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh memberikan perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan metode difusi sumuran. Hasil Uji One Way Anova menunjukkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 75% dengan rata rata zona hambat sebesar 18,25mm menghasilkan zona hambat yang paling efektif dibandingkan ekstrak dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 37,5%, 50%, dan 62,5%. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka daya hambat juga akan semakin meningkat sehingga terjadi perbedaan zona hambat pada setiap konsentrasi ekstrak. Setelah itu

dilanjutkan dengan Uji Post Hoc digunakan mengetahui perbedaan signifikan pada tiap dua kelompok data (Rojiah *et al.*, 2015). Pada Uji Post Hoc diketahui bahwa terdapat beberapa konsentrasi ekstrak yang tidak memiliki perbedaan signifikan, contohnya ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dan ekstrak dengan konsentrasi 25% tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa kemungkinan antara lain, dari kepekaan bahan antibakteri yang digunakan dan konsentrasi senyawa bahan ekstrak yang diberikan (Christianto *et al.*, 2012). Terdapat juga berbagai konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikan, misalnya ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dan ekstrak dengan konsentrasi 37,5%. Perbedaan yang signifikan terjadi karena rentang konsentrasi sudah baik sehingga diameter zona hambat meningkat secara signifikan.

Uji Korelasi pada penelitian ini menunjukkan adanya korelasi yang signifikan dan arah korelasinya adalah positif yang berarti meningkatnya konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dapat meningkatkan diameter zona hambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Hal ini terjadi karena dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, maka kandungan zat aktif di dalam ekstrak daun belimbing wuluh juga ikut meningkat. Selanjutnya, pada Uji Regresi diketahui bahwa R square bernilai 0,674 atau sebesar 67,4% yang berarti pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* sebesar 67,4%. Sisanya 32,6% dapat dipengaruhi berbagai macam faktor yang tidak diukur pada saat

penelitian seperti pengaruh suhu, sinar matahari, lama penyimpanan ekstrak.

Terdapat beberapa perbedaan hasil penelitian efek antibakteri daun belimbing wuluh terhadap beberapa bakteri. Pada penelitian yang dilakukan oleh Karima (2015) menggunakan difusi sumuran menunjukkan ekstrak etanol kayu siwak memiliki daya antibakteri yang mampu menghasilkan zona hambat pada konsentrasi 20% terhadap *Porhyromonas gingivalis*. Penelitian yang lain dilakukan oleh Sapara *et al.*, 2016 menggunakan difusi sumuran menunjukkan ekstrak daun pacar ais memiliki daya antibakteri yang mampu menghasilkan zona hambat pada konsentrasi 12,5% terhadap *Porhyromonas gingivalis*. Pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* terhambat karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun belimbing wuluh. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun belimbing wuluh adalah flavonoid, saponin, triterpenoid dan tannin (Liantari, 2014). Senyawa aktif flavonoid di dalam daun belimbing wuluh memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen. Keadaan ini menyebabkan struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil sehingga sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya. Selanjutnya, fungsi permeabilitas sel bakteri akan terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri. Komponen fenol juga dapat menyebabkan kerusakan dinding sel (Liantari, 2014). Saponin dapat menghambat bakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya

permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Aktivitas tanin sebagai antibakteri dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu menghambat enzim antibakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel dan menginaktivasi enzim-enzim esensial atau materi genetik. Selanjutnya, senyawa tannin dapat membentuk kompleks dengan protein melalui interaksi hidrofobik sehingga dengan adanya ikatan hidrofobik akan terjadi denaturasi dan akhirnya metabolisme sel terganggu (Liantari, 2014). Mekanisme aktivitas anti-mikroba dari triterpenoid dengan merusak fraksi lipid membran sitoplasma, sehingga akan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel.

Chlorhexidine gluconate bekerja dengan cara menyerap beberapa komponen dari biofilm pada permukaan gigi, misalnya bakteri, polisakarida, ekstraseluler, dan glikoprotein. Interaksi ini akan meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri yang menyebabkan terjadinya penetrasi ke dalam sitoplasma yang menyebabkan kematian mikroorganisme (Hafidata *et al.*, 2014)

Dengan melihat hasil penelitian yakni adanya peningkatan zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat adanya senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, Namun ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi tertinggi yang telah diuji yaitu konsentrasi 75% belum mampu menandingi daya hambat *chlorhexidine gluconate* 0,2%. Menurut fungsi regresi,

konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang mampu menandingi zona hambat *chlorhexidine gluconate* 0,2% adalah konsentrasi 81%. Tetapi konsentrasi ekstrak yang tinggi terkadang dapat memunculkan efek toksisitas yang terkandung di dalamnya (Jumain *et al.*, 2018). Kekurangan dari penelitian ini diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun belimbing wuluh.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) mempunyai daya antibakteri untuk menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro
2. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) mempunyai zona hambat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro pada konsentrasi 12,5% adalah 11,87mm, pada konsentrasi 25% adalah 14,45 mm, pada konsentrasi 37,5% adalah 15,55 mm, pada konsentrasi 50% adalah 16,32 mm 62.5% adalah 17,2mm, dan pada konsentrasi 75% adalah 18,25 mm.
3. Semakin besar konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, maka diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* juga besar.

7.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi L*) secara *in vivo* pada hewan coba
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan zat aktif mana yang memiliki daya antibakteri paling besar pada ekstrak daun belimbing wuluh.



DAFTAR PUSTAKA

- Acumedia. 2011. *MacConkey Agar*. Neogen Corporation
- Aini Q. 2015. *Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan Terhadap Viabilitas dan Profil Protein Isolat Staphylococcus aureus Sebagai Bahan Vaksin*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. 2015
- Andrew, Richard. 2012. Bakteriologi(Rafli Tumiwa, Penerjemah Alih Bahasa) p. 20-34. Bogo : Triloka Medika.
- Aziz. T., Cindo. R., Fresca. A., Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. 2009. 1 (16): 1-8
- Balogopal S, Arjunker R. Chlorhexidine: the gold antiplaque agent. *J Pharm Sci&Res* 2013; 5(12), 270-4
- Bustanussalam. Pemanfaatan Obat Tradisional (Herbal) Sebagai Obat Alternatif. 2016. 7 (1): 220-25
- Christianto, C.W., 2012, Efek Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, *Oral Biology Dent J*, 4(2):40-44.
- Darmawanti, Ngaisah. 2010. Petunjuk Penelitian Mikrobio (p. 9-19). Yogyakarta : BeliMedia
- Depkes. 2014. *Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut*. Info datin. Hal 1.
- Dumitrescu AL, Kawamura M. Etiology of periodontal disease. In: Inagaki A, et al. Etiology and pathogenesis of periodontal disease, 2010: 1-20.
- Dzen, Sjoekoer M., et al. 2003. *Bakteriologi Medik*. Edisi 1. Malang: Bayumedia Publishing

Fahrnunda ., Pratiwi R. Kandungan Saponin Buah, Daun, dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa blimbi L*) . 2015. 5 (36): 220-223

Fannya M, Setijanto RD, Martina L. Hubungan perilaku pemeliharaan kesehatan gigi dengan karies pada pengunjung poli gigi Puskesmas Kenjeran. Dental Public Health J;2013: 4(1): 33

Francis G, Serio. and Duncan, Teresa B. 2009: The Pathogenesis and Treatment of Periodontal Disease. ADA CERP.

Gafur M. A., Isa I., Bialangi N. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). 2014: 1-10

Gurgan, CA., Zaim, E., Bakirsoy, I., Soykan., 2006, 'Short- term side effects of 0,2 alcohol free chlorhexidinemouthrinse used as an adjunct to non periodontal treatment: a double- blind clinical study', *J Periodontal*, Vol.7(3), hlm. 370- 84.

Hafidata R, Gunadi A, dan Ermawanti T. daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris Mill*) terhadap pertumbuhan streptococcus mutans. E-Jurnal Pustaka Kesehatan, 2014; 22(1): 22-28

IPTEK (Elok-2009). 2007. Belimbing Asam (Natural Products Chemistry).

Janan, F.F ., Santosa. R., S,S., Sulistyowati.M., 2013. Pengaruh Lama Maserasi Dan Perbandingan Kuning Telur Dengan Etanol Pada Pembuatan Tepung Kuning Telur Puyuh Terhadap Kadar Protein Dan Lemak. Jurnal Ilmiah Peternakan. Fakultas Peternakan. Universitas Soedirman

Jannata, Rabban; Gunandi Achmad; Ermawati, Tartin. 2104. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel (*Malus sylvestris Mill*) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans (*Antibacterial Activity of Manalagi Applr Peel Malus sylvestris MII*) Extract on The Growth of Streptococcus mutans. E- jurnal pustaka kesehatan, vol 2 (no 1).

- Jumain, Syahrani, Farid. Uji Toksisitas Akut Dan Ld50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium Odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus Musculus*).14(1): 65
- Karima Am. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Penyebab Gingivitis *In Vitro*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Lathifah QA. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi L*) Dengan Variasi Pelarut. (Skripsi). Malang (Indonesia): Fakultas Sains dan Teknologi Univeristas Islam Negeri (UIN) Malang; 2008.
- Liantari D.S. Effect Of Wuluh Starfruit Leaf Extract For *Streptococcus mutans* Growth. 2014. 3 (7): 27-33
- Lila G., Isti K., Hambali S., Tatik M. 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin Dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). Pusat Riset Perikanan Budidaya, Jakarta Selatan
- Loomer PM. Microbiology of Periodontal diseases. In: Perry DA, Beemsterboer PL. eds. Periodontology for the dental hygienist. 3rd ed. St. Louis: Saunders elsevier, 2007: 62-78.
- Lubis I. 2016. *Tingkat Keparahan Penyakit Periodontal Pada Perempuan Menopause di PNP Kota Palopo*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar. 2016
- Marsh, P. D., Martin, M. V. Oral Microbiology. ed ke-5. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2009.
- Masduqi A.F., Anggoro A. B. Pemanfaatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Sebagai Bahan Dasar Formula Pastagigi dan Daya Antibakteri *Streptococcus mutan*. 2017. 12 (1): 1201- 1210

- Mulyadi M.A., Wuryanti, Purbowantiningrum Ria., Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. 2017. 20(3): 130-135
- McDonald RE, Avery DR, Weddell JA. Gingivitis and periodontal disease. In: Sokolowski, editor. Dentistry for the child and adolescent. 9th ed. Mosby Elsevier. St. Louis Missouri; 2004. pp. 415
- Muarofah D. 2015. *Dasar Mikrobiologi dan Virologi Porphyromonas Gingivalis*. Tesis. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang. 2015
- Murray PR, Baron RJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH. 1999. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition, USA: ASM Press
- Mysak J., Podzimek S., Sommerova P., Mi Y. L., Bartova J., Janatova T., Prochazkova J., Duskova J. *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview. 2014: 2014 (476068): 1-6
- Newman MG., Takei HH., Klokkevoid P. Carranza FA. 2015. Carranza's Clinical Periodontology 12th Edition. Canada : Elsevier
- Nuraina. 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia Benthami* Pierre Dengan Metode Dilusi. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jakarta. 2015
- Nurainy, Fibra; Rizal,S; Yudiantoro, 2008. Pengaruh Konsentrasi Kitosan Terhadap Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar (Sumur). Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Volume 13. Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

- Ngajow M ., Abidjulu J ., Kamu V.S. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. 2013: 129-132
- Nabsyawati T.I. 2013. Proses Ekstraksi dan Penentuan Parameter Standar Ekstrak Tumbuhan Obat Daun Daruju (*Acanthud ilicifolius L.*) Sebagai Bahan Campuran Jamu di CV. Bina Agromandiri Bantul Yogyakarta. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta. 2013
- Nobre M, Rosa Carvalho, R., Paulo Malo., 2009, 'Non Surgical Treatment of Peri-implant Pockets: An Exploratory Study Comparing 0.2% Chlorhexidine and 0.8% Hyaluronic Acid', *J of Dent hygiene*, vol. 43, no.1, hlm. 25–30
- Pandey A., Tripathi S. Concept Of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies For Herbal Drug. 2014. 2 (5): 115-119
- Parubak A. S. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri Dari Akway (*Drimys beccariana* Gibbs). 2013: 34-37
- Puspitasari A. D., Proyogo L. S. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). 2017: 1-8
- Putri MH, Herijulianti E, Nurjannah N. Ilmu pencegahan penyakit jaringan keras dan jaringan pendukung gigi. Jakarta: EGC; 2012.p.25, 56, 196-8.
- Pendit P.A.C., Zubaidah E., Sriherfyna F.H. Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). 2016. 4 (1): 400-409
- Rabbani. 2014. *Encyclopedia of Drugs* (p. 39-43). Canada: PublicHealth.
- Eley, B.M., Soory, M., Manson, J.D. 2010. *Periodontics Sixth Edition*. China: Elsevier.

- Raharja Atma Surya. 2013. Bakteriologi Pedoman Umum . Jakarta: Karya Press
- Ramsay A., Harvey M. Procyanidins from Averrhoa bilimbi fruits and leaves. 2015. 47 (2016): 16
- Riabqo A., Rachmadi P., Yogyarti S. Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. 2016. 7 (11): 7-11
- Rose LF, Mealey BL. *Periodontics: medicine, surgery, and implants*. Saint Louis: Elsevier Mosby; 2004
- Rojiha, Akhrani LA, Hasanah. Perbedaan *Political Awareness* Dilihat Dari Peran Gender Pemilih Pemula. 1(1): 59-66
- Suwito Marani B, Wahyunitisari RM, Umijati S. Efektivitas Ekstrak Seledri (*Apium Graveolens* L. Var. Secalinum Alef.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Sebagai Alternatif Obat Kumur. 2017: 159-163
- Syafira U., Wibisono P.a., Ruhadi I. Daya Hambat Isolasi Hesperidin Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*, *swingle*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. 2013. 5 (2): 47-52
- Sharma, A., Chopra, H., 2009, 'Case report: Chlorhexidine urticarial: A rare 51 occurrence with a common mouthwash', *Indian Journal of Dental Research*, Vol.20, No.3, hlm. 377-379
- Tampubolon N.S. Dampak Karies Gigi dan Penyakit Periodontal Terhadap Kualitas Hidup. 2005. Hal 3.
- Utomo I. R. B. 2017. *Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (Orthosiphon aristatus) Sebagai Antibakteri Terhadap Porphyromonas gingivalis Secara In- Vitro*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang. 2017

- Valdes EN, Carrillo EL, Solis CEM, Bermeo NLR, Vilchis RJS, Rosado JFC, et al. Tooth demineralization and associated factors in patients on fixed orthodontic treatment. Scientific report. 2016.
- Werdiningsing CR, Hartanti. Status kesehatan gingiva pada penderita Sindrom Down di Balai Besar Rehabilitasi Sosial Bina Grahitia Temanggung. *Insisiva dent J*; 2013; 2(1): 70.
- Yahya D.R., Posmaningsih D.A.A., Notes N. Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa blimbi L*) Pada Perebusan Telur Asin Terhadap Nilai Angka Kuman dan Uji Organoleptik. 2014. 4 (2): 162- 167
- Zaenab., Mardiasuti.H.W., Anny., Logawa. 2004. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap *Streptococcus Mutans* (ATC31987) Dan *Bacteroides Melaninogenicus*, *Makara Kesehatan*, 8(2) : 37-40.